



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CEILÂNDIA
CURSO DE FARMÁCIA

STEPHANIE SANTOS CORREIA MARQUES

**Sequenciamento massivo paralelo para diagnóstico precoce das Síndromes
de Turner e Klinefelter.**

BRASÍLIA, 2023



STEPHANIE SANTOS CORREIA MARQUES

**Sequenciamento massivo paralelo para diagnóstico precoce das Síndromes
de Turner e Klinefelter.**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado como requisito parcial para
obtenção do grau de Farmacêutico,
Faculdade de Ceilândia, Universidade
de Brasília.

Orientador: Dr. Gustavo Barcelos Barra

Co-orientador: Prof. Dr. Rodrigo Haddad

BRASÍLIA, 2023



STEPHANIE SANTOS CORREIA MARQUES

**Sequenciamento massivo paralelo para diagnóstico precoce das Síndromes
de Turner e Klinefelter.**

BANCA EXAMINADORA

Orientador(a): Dr. Gustavo Barcelos Barra
(Sabin Diagnóstico e Saúde)

Co-Orientador(a): Prof. Dr. Rodrigo Haddad
(Universidade de Brasília)

Anderson Coqueiro dos Santos
(Sabin Diagnóstico e Saúde)

Dra. Beatriz Ribeiro Versiani
(Hospital Universitário de Brasília)

BRASÍLIA, 2023

**RESUMO**

Dentre as diversas anomalias cromossômicas, as mais frequentes relacionadas aos cromossomos sexuais são as síndromes de Turner e Klinefelter; ocorrendo em aproximadamente 1:1500-2500 mulheres e 1:660 homens, respectivamente. Sendo que, os acometidos por elas podem ter uma série de complicações durante a vida, mas o diagnóstico geralmente é realizado de forma tardia. Por isso, o objetivo deste estudo é demonstrar a possibilidade de complementar a triagem neonatal com a inclusão dessa análise em exames genéticos já existentes, utilizando o sequenciamento massivo paralelo; possibilitando a realização do acompanhamento e as intervenções necessárias no momento adequado, aumentando a qualidade de vida desses pacientes. Para isso, foram adquiridas 42 amostras do Instituto Coriell (contendo cariótipos 45,X; 46,XX; 46,XY; 47,XXY; 48,XXYY e casos com mosaicismo); realizado o sequenciamento massivo paralelo (por hibridização e captura) para cada uma; gerado um arquivo *BED* específico para calcular a cobertura delas e, em seguida, foi realizado a dosagem dos cromossomos sexuais, classificando-as de acordo com esse resultado. Por fim, este método conseguiu determinar corretamente a quantidade de cromossomos X e Y em todas as amostras testadas, com exceção daquelas com mosaicismo ligado aos cromossomos sexuais. Entretanto, mosaicismo ou outras anomalias relacionadas aos cromossomos autossômicos mostraram não influenciar na dosagem dos cromossomos sexuais.

Palavras-chave: Turner; Klinefelter; Sequenciamento massivo paralelo; NGS; Anomalias cromossômicas.

**ABSTRACT**

Among the various chromosomal anomalies, the most frequent ones related to sex chromosomes are Turner and Klinefelter syndromes; occurring in approximately 1:1500-2500 women and 1:660 men, respectively. Those affected by them may have a series of complications during their lives, but the diagnosis is usually made late. Therefore, the objective of this study is to demonstrate the possibility of complementing neonatal screening with the inclusion of this analysis in existing genetic tests, using massively parallel sequencing; making it possible to carry out follow-up and the necessary interventions at the right time, increasing the quality of life of these patients. For this, 42 samples were acquired from the Coriell Institute (containing karyotypes 45,X; 46,XX; 46,XY; 47,XXY; 48,XXYY and cases with mosaicism); performed massive parallel sequencing (by hybridization and capture) for each one; a specific BED file was generated to calculate their coverage and then the sex chromosomes were measured, classifying them according to this result. Finally, this method was able to correctly determine the amount of X and Y chromosomes in all samples tested, except for those with mosaicism linked to sex chromosomes. However, mosaicism or other anomalies related to autosomal chromosomes didn't influence the determination of sex chromosomes.

Keywords: Turner; Klinefelter; Massive parallel sequencing; NGS; chromosomal abnormalities.



LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Disposição das amostras testadas com relação a dosagem dos cromossomos X e Y..... 20

Figura A1 - Resultado da eletroforese automatizada da amostra NA02668 24



LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Amostras classificadas nas anomalias dos cromossomos sexuais, de acordo com os resultados de dosagem dos cromossomos X e Y	16
Tabela 2 - Padrão de dosagem dos cromossomos sexuais	21
Tabela A1 - Métricas de qualidade do sequenciamento de todas as amostras testadas	22
Tabela A2 - Genes e pseudogenes presentes nas regiões pseudoautossômicas (PAR 1 e PAR2)	24
Tabela A3 - Genes codificantes presentes na região X-degenerada (X-dr) do cromossomo Y	24



SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
2. REVISÃO DE LITERATURA	9
2.1. Sequenciamento massivo paralelo (NGS)	9
2.2. A bioinformática e o <i>pipeline</i> de análise	10
2.2.1. A linguagem R e o RStudio	10
2.2.2. SAMtools	11
2.3. Genoma de referência	11
2.4. Estrutura genómica dos cromossomos sexuais	11
2.4.1. Cromossomo X	12
2.4.2. Cromossomo Y	12
2.5. Mosaicismo	12
3. JUSTIFICATIVA	12
4. OBJETIVOS	13
4.1. Objetivo geral	13
4.2. Objetivos específicos	13
5. ARTIGO CONFORME AS NORMAS DE SUBMISSÃO DA REVISTA ..	14
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA REVISÃO DE LITERATURA .	27
7. NORMAS DE SUBMISSÃO DA REVISTA GENES	32



1. INTRODUÇÃO

Segundo a Organização Mundial da Saúde (2022), anomalias congênitas, também conhecidas como anormalidades ou distúrbios congênitos, são um conjunto de alterações estruturais ou funcionais que ocorrem durante o desenvolvimento embrionário, decorrente de fatores genéticos, ambientais ou de causas desconhecidas, que podem ser identificadas antes, durante ou após o nascimento.

Estima-se que cerca de 6% dos nascidos vivos, no mundo, apresentam alguma anomalia congênita (WHO, 2022). Desses, 15% a 25% ocorrem devido às alterações genéticas (SERVIÇO DE GENÉTICA MÉDICA HUPES-UFBA, 2021), sendo que 6% estão relacionadas às alterações cromossômicas (DORFMAN *et al.*, 2015). No Brasil, cerca de 24 mil nascidos vivos são registrados no SINASC (Sistema de Informações sobre Nascidos Vivos), anualmente, com alguma anomalia congênita. Porém, o número real de casos pode ser ainda maior, visto que nem todos são diagnosticados logo ao nascer (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2021).

Dentre as diversas anomalias cromossômicas, estão a Síndrome de Turner e a Síndrome de Klinefelter. Essas, em vez de apresentarem um cariótipo 46 XX ou 46XY, sendo 22 pares de cromossomos autossomos e um par de cromossomos sexuais, há uma alteração nos cromossomos sexuais, causada pela deleção ou duplicação deles (total ou parcial). Assim, os casos clássicos apresentam um cariótipo 45,X (Síndrome de Turner) ou 47,XXY (Síndrome de Klinefelter) (GRAVHOLT *et al.*, 2016; POWELL-HAMILTON, 2020).

A Síndrome de Turner ocorre em, aproximadamente, 1 a cada 1500 a 2500 nativos do sexo feminino; sendo assim, a anomalia dos cromossomos sexuais mais comum nas mulheres (Brasil, 2018). E, pode estar relacionada a baixa estatura, endocrinopatias, distúrbios gastrintestinais, hepáticos, oftalmológicos e auditivos, além de problemas cardiovasculares, cognitivos, falha do desenvolvimento puberal e infertilidade (GRAVHOLT *et al.*, 2016).

Enquanto, a Síndrome de Klinefelter, considerada a anomalia de cromossomos sexuais mais frequente; ocorre em, aproximadamente, 1 a cada 660 homens, e é a principal causa de hipogonadismo e infertilidade masculina. Também, pode estar associada a estatura elevada, dificuldade linguística, diminuição ou ausência de pelos faciais e pubianos, ginecomastia, anomalias genitais e disfunção



sexual; além de comorbidades como: diabetes, osteoporose e doenças cardiovasculares (MARQUI, 2021b).

Apesar dessas síndromes terem sido descritas há cerca de 80 anos atrás (KLINEFELTER, 1942; LEGRO, 2012), os indivíduos acometidos por elas ainda sofrem com a falta de diagnóstico ou diagnóstico tardio. Entretanto, vários estudos reforçam a importância de um diagnóstico precoce, possibilitando intervenções e tratamentos adequados, reduzindo danos e aumentando a qualidade de vida desses pacientes (ARAÚJO, 2022; MARQUI, 2021a).

Por isso, o objetivo deste trabalho é propor uma análise, utilizando o sequenciamento massivo paralelo (NGS), que possa ser incluída em exames genéticos já existentes (como o “teste da bochechinha”, por exemplo), de modo a identificar essas condições e complementar a triagem neonatal.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Sequenciamento massivo paralelo (NGS)

A partir do descobrimento da estrutura química do DNA, composta por milhões de nucleotídeos ligados entre si (WATSON *et al.*, 1953), foram surgindo uma série de métodos para identificar a ordem exata da sequência de bases dessa molécula, processo conhecido como sequenciamento (MAXAM *et al.*, 1992).

Os sequenciamentos surgiram, inicialmente, com métodos de degradação química, podendo sequenciar apenas cerca de 100 bases (MAXAM *et al.*, 1992); e depois, com inibidores de terminação em cadeia (SANGER *et al.*; COULSON, 1977), metodologia que revolucionou a genética, pois possibilitou a conclusão de várias sequências genômicas (incluindo humanas) e forneceu a base para o desenvolvimento de outras tecnologias de sequenciamento (VERMA *et al.*, 2017).

A partir disso, surgiu o sequenciamento massivo paralelo que, aos poucos, foi substituindo o método de Sanger, pois consegue sequenciar bilhões de nucleotídeos simultaneamente em uma única corrida, tornando-se um método de larga-escala, mais barato e rápido (Schuster, 2008).

Para isso, são necessárias algumas etapas: preparação da biblioteca (onde as sequências alvo são fragmentadas e ligadas aos adaptadores e “*indexes*”);



amplificação das bibliotecas, captura das regiões de interesse e enriquecimento delas por hibridização; sequenciamento e análise bioinformática (DAHUI, 2019).

2.2. A bioinformática e o *pipeline* de análise

O uso de ferramentas computacionais na área da genômica surgiu da necessidade de organizar, processar, interpretar e armazenar a grande quantidade e complexidade de dados gerados pelos instrumentos de sequenciamento. A bioinformática auxilia esse processo utilizando três etapas principais que, juntas, são conhecidas como *pipeline* de análise (OLIVER *et al.*, 2015).

Essas etapas são desenvolvidas para converter os sinais brutos gerados pelos equipamentos em sequências curtas de bases que se tornarão informações interpretáveis e, em resumo, envolvem o alinhamento dessa sequência nucleotídica a um genoma de referência, filtragem de leituras duplicadas e, por fim, detecção e seleção das variantes que seguirão para análise e classificação (OLIVER *et al.*, 2015).

Nas etapas que constituem o *pipeline* de análise são gerados arquivos *FASTQ*, *BAM* e *VCF*. Sendo que, *FASTQ* é o formato de arquivo de texto que contém as sequências de bases de cada amostra sequenciada; o *BAM* (mapa de alinhamento binário) contém o alinhamento das sequências ao genoma de referência e; o *VCF* (formato de chamada de variante) contém a lista de todas as variantes detectadas a partir do *BAM* (ROY *et al.*, 2018).

Ao analisar os dados, também é importante considerar algumas métricas de qualidade. Entre as principais, está a cobertura ou profundidade de leitura. A partir dessa informação, é possível inferir se a região que está sendo analisada foi alinhada corretamente, pois a profundidade vertical (número de *reads*) mostra quantas vezes a alteração foi lida naquela posição (PANIZA, 2021; ROY *et al.*, 2018).

2.2.1 A linguagem R e o RStudio

O RStudio é um software gratuito e de fácil compreensão, que auxilia na análise de grandes quantidades de dados, utilizando a linguagem de programação R, usada para gerar gráficos e cálculos estatísticos (R PROJECT, [s.d.]; NOLETO,



2022).

2.2.2 SAMtools

O SAMtools é um conjunto de programas utilizado para processar e analisar dados de alinhamento de leitura de sequenciamento de DNA nos formatos SAM, BAM e CRAM. Ele inclui ferramentas para chamada de variantes e visualização de alinhamento, além de classificação, indexação, extração de dados, estatísticas e conversão de formato (DANECEK *et al.*, 2021)

2.3. Genoma de referência

O interesse pelo sequenciamento completo do genoma humano (cerca de 3 bilhões de pares de base e 20.000 genes), deu início ao “projeto genoma humano” em 1989; liderado pelo *National human genome research institute*, reunia equipes de pesquisa e laboratórios de vários países. E assim, conseguiram publicar, em 2001, o primeiro genoma de referência, composto por amostras de doadores anônimos de diferentes grupos étnicos (GÓES *et al.*, 2014).

No entanto, essa versão tinha muitas falhas. Mas, ainda assim, possibilitou muitos avanços na área da biologia e, em especial, da genética. A partir dela, foram surgindo outras versões, com melhorias, correção de erros e preenchimento de lacunas; chegando à versão utilizada atualmente, conhecida como GRCh38 (consórcio de pesquisa de genomas h38) ou, simplesmente, hg38 (GENOME REFERENCE CONSORTIUM, 2022; JORDAN, 2022).

2.4. Estrutura genômica dos cromossomos sexuais

Os cromossomos sexuais evoluíram de um par de cromossomos autossomos há cerca de 300 milhões de anos atrás. Nesse processo, a maior parte dos elementos originais foram conservados no cromossomo X, enquanto o Y perdeu quase todos os vestígios do autossomo ancestral (ROSS *et al.*, 2005). Por isso, enquanto o cromossomo X tem aproximadamente 155 Mb de comprimento, o Y tem apenas cerca de 55 Mb (VOCKEL *et al.*, 2021).

Porém, entre eles ainda restaram regiões idênticas e homólogas entre si, as “regiões pseudoautossômicas (PAR)”, encontradas em ambas as extremidades dos



cromossomos X e Y (MANGS *et al.*, 2007). Assim, o PAR 1 encontrado na ponta do braço curto engloba 2,7 Mb, enquanto o PAR 2 compreende 330 Kb ao final dobraço longo desses cromossomos (MONTEIRO *et al.*, 2021).

2.4.1. Cromossomo X

Em 2005, foi alcançado o sequenciamento de 99,3% da sequência eucromática do cromossomo X, identificando a presença de 1.098 genes, representando 4% do genoma humano (ROSS *et al.*, 2005). Sendo que, desses, 31 genes ou pseudogenes estão presentes nas regiões pseudoautossômicas (MONTEIRO *et al.*, 2021).

2.4.2. Cromossomo Y

Após o sequenciamento do genoma humano, em 2001, foi possível obter a sequência completa do cromossomo Y (SKALETSKY *et al.*, 2003). E, entre as regiões PAR, foram encontradas regiões específicas masculinas do cromossomo Y (MSY), com 78 genes codificadores de proteínas, compreendem 95% de seu comprimento e são compostas por classes de sequências, divididas de acordo com a sua origem; denominadas como: X-transpostas, amplicônicas e X-degeneradas (KOH *et al.*, 2005).

Porém, são as regiões X-degeneradas que codificam a maioria das proteínas do MSY, compreendendo genes de cópia única ou pseudogenes homólogos a 27 genes diferentes ligados ao X. Além disso, o gene SRY (determinante sexual) e todos os genes do MSY expressos amplamente em todo o corpo estão nessa região (KOH *et al.*, 2005).

2.5. Mosaicismo

O mosaicismo é uma falha genética que pode ocorrer durante o desenvolvimento embrionário e resulta na presença de mais de uma linhagem celular com constituição cromossômica distinta em um mesmo indivíduo (BIESECKER e SPINNER, 2013). E, essa condição pode envolver tanto os autossômicos como os sexuais.



3. JUSTIFICATIVA

A maioria dos indivíduos acometidos por essas síndromes não são diagnosticados corretamente ou recebem esse diagnóstico de forma tardia, inviabilizando a realização de um tratamento adequado. Com um exame de triagem neonatal incluindo a análise dessas anomalias, é possível descobri-las antes do aparecimento de sintomas e facilitar a realização do acompanhamento e das intervenções necessárias em tempo oportuno.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo geral

Estudar métodos de detecção da quantidade de cromossomos X e Y em amostras sequenciadas por NGS para inclusão da análise das anomalias cromossômicas envolvidas nas síndromes de Turner e Klinefelter em exames genéticos de triagem neonatal já existentes.

4.2. Objetivos específicos

- Realizar o sequenciamento genético com amostras de DNA humano - provenientes do repositório Coriell - afetadas e não afetadas com as síndromes analisadas;
- Desenvolver pipeline de bioinformática para identificação das síndromes analisadas a partir dos dados NGS;
- Verificar limitações do método;
- Analisar a viabilidade de implementação do teste.

Artigo

1
2

Sequenciamento massivo paralelo para diagnóstico precoce das Síndromes de Turner e Klinefelter

3
4Stephanie Santos Correia Marques¹, Gustavo Barcelos Barra^{2*}.

5

1 Graduação em Farmácia, Universidade de Brasília, Brasília DF 70910-900, Brasil

6

2 Laboratório de Análises Clínicas, Sabin Diagnóstico e Saúde, Brasília, DF 70632-300, Brasil

7

*Correspondência: gbarra@gmail.com

8

Resumo: Dentre as diversas anomalias cromossômicas, as mais frequentes relacionadas aos cromossomos sexuais são as síndromes de Turner e Klinefelter; ocorrendo em aproximadamente 1:1500-2500 mulheres e 1:660 homens, respectivamente. Sendo que, os acometidos por elas podem ter uma série de complicações durante a vida, mas o diagnóstico geralmente é realizado de forma tardia. Por isso, o objetivo deste estudo é demonstrar a possibilidade de complementar a triagem neonatal com a inclusão dessa análise em exames genéticos já existentes, utilizando o sequenciamento massivo paralelo; possibilitando a realização do acompanhamento e as intervenções necessárias no momento adequado, aumentando a qualidade de vida desses pacientes. Para isso, foram adquiridas 42 amostras do Instituto Coriell (contendo cariotipos 46,XX; 46,XY; 45,X; 47,XXY; 48,XXYY e casos com mosaicismo); realizado o sequenciamento massivo paralelo (por hibridização e captura) para cada uma; gerado um arquivo BED específico para calcular a cobertura delas e, em seguida, foi realizado a dosagem dos cromossomos sexuais, classificando-as de acordo com esse resultado. Por fim, este método conseguiu determinar corretamente a quantidade de cromossomos X e Y em todas as amostras testadas, com exceção daquelas com mosaicismo ligado aos cromossomos sexuais. Entretanto, mosaicismo ou outras anomalias relacionadas aos cromossomos autossômicos mostraram não influenciar na dosagem dos cromossomos sexuais.

9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24

Palavras-chave: Turner; Klinefelter; Sequenciamento massivo paralelo; NGS; Anomalias cromossômicas.

25
26
27

1. Introdução

28
29
30
31
32
33

Segundo a Organização Mundial da Saúde [1], anomalias congênitas, também conhecidas como anormalidades ou distúrbios congênitos, são um conjunto de alterações estruturais ou funcionais que ocorrem durante o desenvolvimento embrionário, decorrente de fatores genéticos, ambientais ou de causas desconhecidas, que podem ser identificadas antes, durante ou após o nascimento.

34
35
36
37
38
39

Estima-se que cerca de 6% dos nascidos vivos, no mundo, apresentam alguma anomalia congênita [1]. Desses, 15% a 25% ocorrem devido às alterações genéticas [2], sendo que 6% estão relacionadas às alterações cromossômicas [3]. No Brasil, cerca de 24 mil nascidos vivos são registrados no SINASC (Sistema de Informações sobre Nascidos Vivos), anualmente, com alguma anomalia congênita. Porém, o número real de casos pode ser ainda maior, visto que nem todos são diagnosticados logo ao nascer [4].

40
41
42
43

Dentre as diversas anomalias cromossômicas, estão a Síndrome de Turner e a Síndrome de Klinefelter. Essas, em vez de apresentarem um cariotípico 46,XX ou 46,XY, sendo 22 pares de cromossomos autossomos e um par de cromossomos sexuais, há uma alteração nos cromossomos sexuais, causada pela deleção ou duplicação deles (total ou parcial).

Citação: A ser adicionado pela equipe editorial durante a produção.

44

Editor Acadêmico: Nome Sobrenome

45

Recebido: data

46

Revisado: data

47

Aceito: data

48

Publicado: data

49



Direitos autorais: © 2023 pelos autores. Enviado para possível publicação em acesso aberto sob os termos e condições da licença Creative Commons Attribution (CC BY) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
66
67
68
69
70
71
72
73
74
75
76
77
78
79
80
81
82
83
84
85
86
87
88
89
90
91
92
93
94
95
96
97
98
99
100
101
102
103
104
105
106
107
108
109
110
111
112
113
114
115
116
117
118
119
120
121
122
123
124
125
126
127
128
129
130
131
132
133
134
135
136
137
138
139
140
141
142
143
144
145
146
147
148
149
150
151
152
153
154
155
156
157
158
159
160
161
162
163
164
165
166
167
168
169
170
171
172
173
174
175
176
177
178
179
180
181
182
183
184
185
186
187
188
189
190
191
192
193
194
195
196
197
198
199
200
201
202
203
204
205
206
207
208
209
210
211
212
213
214
215
216
217
218
219
220
221
222
223
224
225
226
227
228
229
230
231
232
233
234
235
236
237
238
239
240
241
242
243
244
245
246
247
248
249
250
251
252
253
254
255
256
257
258
259
260
261
262
263
264
265
266
267
268
269
270
271
272
273
274
275
276
277
278
279
280
281
282
283
284
285
286
287
288
289
290
291
292
293
294
295
296
297
298
299
300
301
302
303
304
305
306
307
308
309
310
311
312
313
314
315
316
317
318
319
320
321
322
323
324
325
326
327
328
329
330
331
332
333
334
335
336
337
338
339
340
341
342
343
344
345
346
347
348
349
350
351
352
353
354
355
356
357
358
359
360
361
362
363
364
365
366
367
368
369
370
371
372
373
374
375
376
377
378
379
380
381
382
383
384
385
386
387
388
389
390
391
392
393
394
395
396
397
398
399
400
401
402
403
404
405
406
407
408
409
410
411
412
413
414
415
416
417
418
419
420
421
422
423
424
425
426
427
428
429
430
431
432
433
434
435
436
437
438
439
440
441
442
443
444
445
446
447
448
449
450
451
452
453
454
455
456
457
458
459
460
461
462
463
464
465
466
467
468
469
470
471
472
473
474
475
476
477
478
479
480
481
482
483
484
485
486
487
488
489
490
491
492
493
494
495
496
497
498
499
500
501
502
503
504
505
506
507
508
509
510
511
512
513
514
515
516
517
518
519
520
521
522
523
524
525
526
527
528
529
530
531
532
533
534
535
536
537
538
539
540
541
542
543
544
545
546
547
548
549
550
551
552
553
554
555
556
557
558
559
5510
5511
5512
5513
5514
5515
5516
5517
5518
5519
5520
5521
5522
5523
5524
5525
5526
5527
5528
5529
5530
5531
5532
5533
5534
5535
5536
5537
5538
5539
55310
55311
55312
55313
55314
55315
55316
55317
55318
55319
55320
55321
55322
55323
55324
55325
55326
55327
55328
55329
55330
55331
55332
55333
55334
55335
55336
55337
55338
55339
55340
55341
55342
55343
55344
55345
55346
55347
55348
55349
55350
55351
55352
55353
55354
55355
55356
55357
55358
55359
55360
55361
55362
55363
55364
55365
55366
55367
55368
55369
55370
55371
55372
55373
55374
55375
55376
55377
55378
55379
55380
55381
55382
55383
55384
55385
55386
55387
55388
55389
55390
55391
55392
55393
55394
55395
55396
55397
55398
55399
553100
553101
553102
553103
553104
553105
553106
553107
553108
553109
553110
553111
553112
553113
553114
553115
553116
553117
553118
553119
5531100
5531101
5531102
5531103
5531104
5531105
5531106
5531107
5531108
5531109
5531110
5531111
5531112
5531113
5531114
5531115
5531116
5531117
5531118
5531119
55311100
55311101
55311102
55311103
55311104
55311105
55311106
55311107
55311108
55311109
55311110
55311111
55311112
55311113
55311114
55311115
55311116
55311117
55311118
55311119
553111100
553111101
553111102
553111103
553111104
553111105
553111106
553111107
553111108
553111109
553111110
553111111
553111112
553111113
553111114
553111115
553111116
553111117
553111118
553111119
5531111100
5531111101
5531111102
5531111103
5531111104
5531111105
5531111106
5531111107
5531111108
5531111109
5531111110
5531111111
5531111112
5531111113
5531111114
5531111115
5531111116
5531111117
5531111118
5531111119
55311111100
55311111101
55311111102
55311111103
55311111104
55311111105
55311111106
55311111107
55311111108
55311111109
55311111110
55311111111
55311111112
55311111113
55311111114
55311111115
55311111116
55311111117
55311111118
55311111119
553111111100
553111111101
553111111102
553111111103
553111111104
553111111105
553111111106
553111111107
553111111108
553111111109
553111111110
553111111111
553111111112
553111111113
553111111114
553111111115
553111111116
553111111117
553111111118
553111111119
5531111111100
5531111111101
5531111111102
5531111111103
5531111111104
5531111111105
5531111111106
5531111111107
5531111111108
5531111111109
5531111111110
5531111111111
5531111111112
5531111111113
5531111111114
5531111111115
5531111111116
5531111111117
5531111111118
5531111111119
55311111111100
55311111111101
55311111111102
55311111111103
55311111111104
55311111111105
55311111111106
55311111111107
55311111111108
55311111111109
55311111111110
55311111111111
55311111111112
55311111111113
55311111111114
55311111111115
55311111111116
55311111111117
55311111111118
55311111111119
553111111111100
553111111111101
553111111111102
553111111111103
553111111111104
553111111111105
553111111111106
553111111111107
553111111111108
553111111111109
553111111111110
553111111111111
553111111111112
553111111111113
553111111111114
553111111111115
553111111111116
553111111111117
553111111111118
553111111111119
5531111111111100
5531111111111101
5531111111111102
5531111111111103
5531111111111104
5531111111111105
5531111111111106
5531111111111107
5531111111111108
5531111111111109
5531111111111110
5531111111111111
5531111111111112
5531111111111113
5531111111111114
5531111111111115
5531111111111116
5531111111111117
5531111111111118
5531111111111119
55311111111111100
55311111111111101
55311111111111102
55311111111111103
55311111111111104
55311111111111105
55311111111111106
55311111111111107
55311111111111108
55311111111111109
55311111111111110
55311111111111111
55311111111111112
55311111111111113
55311111111111114
55311111111111115
55311111111111116
55311111111111117
55311111111111118
55311111111111119
553111111111111100
553111111111111101
553111111111111102
553111111111111103
553111111111111104
553111111111111105
553111111111111106
553111111111111107
553111111111111108
553111111111111109
553111111111111110
553111111111111111
553111111111111112
553111111111111113
553111111111111114
553111111111111115
553111111111111116
553111111111111117
553111111111111118
553111111111111119
5531111111111111100
5531111111111111101
5531111111111111102
5531111111111111103
5531111111111111104
5531111111111111105
5531111111111111106
5531111111111111107
5531111111111111108
5531111111111111109
5531111111111111110
5531111111111111111
5531111111111111112
5531111111111111113
5531111111111111114
5531111111111111115
5531111111111111116
5531111111111111117
5531111111111111118
5531111111111111119
55311111111111111100
55311111111111111101
55311111111111111102
55311111111111111103
55311111111111111104
55311111111111111105
55311111111111111106
55311111111111111107
55311111111111111108
55311111111111111109
55311111111111111110
55311111111111111111
55311111111111111112
55311111111111111113
55311111111111111114
55311111111111111115
55311111111111111116
55311111111111111117
55311111111111111118
55311111111111111119
553111111111111111100
553111111111111111101
553111111111111111102
553111111111111111103
553111111111111111104
553111111111111111105
553111111111111111106
553111111111111111107
553111111111111111108
553111111111111111109
553111111111111111110
553111111111111111111
553111111111111111112
553111111111111111113
553111111111111111114
553111111111111111115
553111111111111111116
553111111111111111117
553111111111111111118
553111111111111111119
5531111111111111111100
5531111111111111111101
5531111111111111111102
5531111111111111111103
5531111111111111111104
5531111111111111111105
5531111111111111111106
5531111111111111111107
5531111111111111111108
5531111111111111111109
5531111111111111111110
5531111111111111111111
5531111111111111111112
5531111111111111111113
5531111111111111111114
5531111111111111111115
5531111111111111111116
553111111111

Assim, os casos clássicos apresentam um cariótipo 45,X (Síndrome de Turner) ou 47,XXY (Síndrome de Klinefelter) [5,6].	44
A Síndrome de Turner ocorre em, aproximadamente, 1 a cada 1500 a 2500 nativos do sexo feminino; sendo assim, a anomalia dos cromossomos sexuais mais comum nas mulheres [7]. E, pode estar relacionada a baixa estatura, endocrinopatias, distúrbios gastrintestinais, hepáticos, oftalmológicos e auditivos, além de problemas cardiovasculares, cognitivos, falha do desenvolvimento puberal e infertilidade [5].	45
Enquanto, a Síndrome de Klinefelter, considerada a anomalia de cromossomos性ais mais frequente; ocorre em, aproximadamente, 1 a cada 660 homens, e é a principal causa de hipogonadismo e infertilidade masculina. Também, pode estar associada a estatura elevada, dificuldade linguística, diminuição ou ausência de pelos faciais e pubianos, ginecomastia, anomalias genitais e disfunção sexual; além de comorbidades como: diabetes, osteoporose e doenças cardiovasculares [8].	46
Apesar dessas síndromes terem sido descritas há cerca de 80 anos atrás [9,10], os indivíduos acometidos por elas ainda sofrem com a falta de diagnóstico ou diagnóstico tardio. Entretanto, vários estudos reforçam a importância de um diagnóstico precoce, possibilitando a realização do acompanhamento e das intervenções necessárias em tempo oportuno, reduzindo danos e aumentando a qualidade de vida desses pacientes [11,12].	47
Por isso, o objetivo deste trabalho é demonstrar a possibilidade de complementar a triagem neonatal com a análise dessas anomalias, por meio do sequenciamento massivo paralelo (NGS), incluindo-a em exames genéticos já existentes (como a triagem neonatal genética ou “teste da bochechinha”, por exemplo).	48
2. Materiais e métodos	50
<i>2.1. Aquisição das amostras</i>	51
Inicialmente, foram adquiridas 42 amostras do Instituto Coriell. Entre elas: 10 positivas para a Síndrome de Turner; 9 positivas para a Síndrome de Klinefelter e 23 negativas para as síndromes em questão (10 femininas e 13 masculinas). Sendo que, 7 delas apresentavam mosaicismo envolvendo os cromossomos sexuais e 1 envolvendo cromossomos autossomos.	52
<i>2.2. Quantificação de DNA</i>	53
A quantificação de DNA de todas as amostras foi realizada no fluorômetro Qubit, com o “Kit de Ensaio Qubit 1X dsDNA HS”, utilizando o “Protocolo geral de ensaio Qubit” [13].	54
<i>2.3. Sequenciamento massivo paralelo</i>	55
Nesta etapa, foram utilizados os protocolos “xGen™ DNA Library Prep EZ Kit” [14] e “xGen™ hybridization capture of DNA libraries” [15] da IDT para preparação das bibliotecas e a captura de hibridização das regiões genômicas alvo; utilizando painéis pré-projetados para hibridização de doenças hereditárias [16] e do DNA mitocondrial humano [17].	56
A partir disso, o sequenciamento foi realizado no equipamento NextSeq 500 da Illumina, que continuamente envia dados para chamada de base para a nuvem da illumina (BaseSpace). E, assim, ao finalizar o sequenciamento, nessa plataforma, é realizada a separação das amostras por index e gerados os arquivos FASTQ. Além disso, também é	57

possível acessar as métricas de qualidade do sequenciamento. Em seguida, os dados obtidos serão processados por bioinformática.

2.4. Dosagem dos cromossomos sexuais

Ainda no BaseSpace, é utilizada a aplicação Dragen Enrichment para gerar os arquivos BAM. Depois, foi gerado um arquivo BED para calcular a cobertura das amostras. Para isso, foi utilizado um BED inicial contendo todas as regiões abrangidas pelas sondas referentes aos painéis utilizados no sequenciamento.

A partir dele, no software SamTools, foram excluídas as posições relacionadas às regiões pseudoautossômicas (Tabela A2) [18] e, dentre os genes pertencentes ao cromossomo Y, foram excluídos os que não pertenciam à região X-degenerada (Tabela A3) [19]. Assim, formando o arquivo BED que seria aplicado nas etapas seguintes.

Com o BED finalizado, e utilizando o BAM das amostras, foi calculado a cobertura de todas elas individualmente, utilizando o comando “samtools bedcov”. Depois, usando a ferramenta RStudio, foi calculado a dosagem dos cromossomos X e Y de cada uma, da seguinte forma:

Dosagem de X = (Média da cobertura de X / Média da cobertura dos cromossomos autossomos) x2.

Dosagem de Y = (Média da cobertura de Y / Média da cobertura dos cromossomos autossomos) x2.

3. Resultados

3.1. Métricas de qualidade

Após o sequenciamento das amostras e o processamento delas no BaseSpace, foi analisado as métricas de qualidade e a amostra NA02668 foi reprovada nos parâmetros de cobertura e profundidade, provavelmente devido à alta fragmentação dela (Tabela A1). Para verificar a integridade dessa amostra, foi realizada a análise dela por eletroforese automatizada no TapeStation, confirmando essa hipótese (Figura A1).

Ainda assim, decidiu-se continuar o estudo com essa amostra, para avaliar como ela se comportaria no ensaio. Porém, não foi possível fazer essa avaliação, devido ao mosaicismo ligado aos cromossomos sexuais que ela possui. Pois, uma limitação encontrada para este método foi a identificação dessa condição.

3.2. Dosagem dos cromossomos sexuais

A partir do cálculo utilizado para determinar a dosagem dos cromossomos sexuais, todas as amostras com cariótipos 45,X; 46,XX; 46,XY; 47,XXY ou 48,XXYY foram classificadas corretamente; com exceção dos casos com mosaicismo envolvendo os cromossomos sexuais (Tabela 1).

Tabela 1. Amostras classificadas nas anomalias dos cromossomos sexuais, de acordo com os resultados de dosagem dos cromossomos X e Y.

Amostra	Sexo	Caracterização genética	Dosagem chrX	Dosagem chrY	Classificação
HG00187	Masculino	1000 Genomes Project - Finlandês	0,988599	0,786544	46,XY

NA00232	Mascu-lino	AME	1,009264	0,963612	46,XY	
NA00339	Femi-nino	45,X,t(2;4)(2qter>2p13:4q31>4q ter;4pter>4q31::2p13>2pter)[28]/46,X,idic(X)(qter>p11::p 11>qter)[15]/45,X[5]/47,X,idic(X)(p11),+idic(X)(p11)[2]		2,397061	0,000584	Mosaico
NA00857	Femi-nino	45,X.arr Xp22.33q28(108464- 154887040)x1	1,006244	0,000168	45,X	
NA01176	Femi-nino	45,X[18].arr(X)x1	1,007558	0,00017	45,X	
NA01941	Femi-nino	45,X[5]/46,X,idic(Y)(q12)[5].is h	0,966826	0,309932	Mosaico	
NA02668	Mascu-lino	46,X,del(Y)(pter>q11.2:)[77]/45 ,X[33]	1,049481	0,309629	Mosaico	
NA03102	Mascu-lino	47,XXY	1,980835	0,914003	47,XXY	
NA03330	Mascu-lino	Trissomia do 13	0,997298	0,956703	46,XY	
NA03543	Femi-nino	46,X,i(X)(qter>q10::q10>qter)[3 0]/45,X[20]	1,429612	0,00018	Mosaico	
NA03813	Mascu-lino	AME	1,007985	0,943133	46,XY	
NA04375	Mascu-lino	48,XXYY.arr(X)x2,Yp11.31p11. 223(2710425- 23302179)x2,Yq11.23q12(26868 023-27209311)x2	1,981758	1,876541	48,XXYY	
NA06047	Mascu-lino	46,XY,-17+mar[7]/45,XY,- 17[2]/47,XY,+8,- 17+mar[2].arr[hg19] 17p13.3p13.2(513-5766286)x1.	1,019469	0,952631	46,XY	
NA06563	Femi-nino	45,X[36]/46,X,r(X)(p22.3q24)[1 4].arr Xp22.33q28(229433- 154887040)x1 2	1,131296	0,001642	Mosaico	
NA09677	Mascu-lino	AME	1,016471	0,996844	46,XY	
NA09888	Femi-nino	46,XX,del(8)(q23q24.1)[20]	1,908088	0,000158	46,XX	

NA10160	Mascu- lino	46,XY, del(7)(q11.23q21.3).ish 7q11.23q21.3(72297530- 94761169)x1	0,997494	0,934435	46,XY
NA10179	Femi- nino	45,X[19]	0,988924	0,000112	45,X
NA10684	Femi- nino	AME	1,890703	0,000039	46,XX
NA13476	Femi- nino	46,XX.ish del(17)(p11.2p11.2)(D17S29- .arr 17p11.2(16704280- 20336467)x1	1,936441	0	46,XX
NA13554	Mascu- lino	arr.[hg18] 15q11.2(22716305- 22756297)x1	0,975691	0,84469	46,XY
NA13556	Femi- nino	arr. 15q11.2(22716305- 22751439)x1	1,900518	0,00007	46,XX
NA14131	Femi- nino	46,XX,del(5)(p15.1).ish del(5)(p15.33p15.1)(D5S23- .arr 5p15.33p15.1(68519- 16362247)x1	1,903803	0,000116	46,XX
NA14626	Femi- nino	Câncer de mama (BRCA 1 e 2)	1,924628	0,000032	46,XX
NA17729	Mascu- lino	47,XXY	1,912993	0,874197	47,XXY
NA17857	Mascu- lino	47,XXY	1,792106	0,859328	47,XXY
NA17867	Mascu- lino	47,XXY.arr(X)x2,(Y)x1	1,885395	0,875746	47,XXY
NA17879	Mascu- lino	47,XXY	1,90095	0,875607	47,XXY
NA17908	Mascu- lino	47,XXY[48]/46,XX[1]/46,XY[1]	1,887518	0,876413	47,XXY
NA17931	Mascu- lino	47,XXY[47]/46,XX[2]/48,XXX Y[1]	1,91092	0,834177	47,XXY
NA17942	Mascu- lino	46,XY[20].arr[GRCh37] 22q11.21(18748427- 21611337)x1	0,990108	0,894812	46,XY
NA18310	Mascu- lino	47,XXY	1,906425	0,860002	47,XXY
NA18949	Femi- nino	1000 Genomes project - Japo- nês	1,924614	0,000211	46,XX

NA20027	Femi-nino	45,X.arr[hg19] (1-22)x2,(X)x1	0,993574	0,000311	45,X
NA20375	Mascu-lino	46,XY, del(15)(pter->q11.2::q13->qter).arr[hg19] 15q11.2q13.1(23641501-28560804)x1,15q11.2(22301993-22588019)x3	0,998562	0,860609	46,XY
NA20408	Femi-nino	46,XX.ish 15p11.1q22(D15Z1, D15S10/UBE, PML)x2.arr 15q11.1q22.2 (18331686-60382612)x2 hmxz, 15q26.2q26.3 (93938257-99909256)x2 hmxz	1,930349	0,00005	46,XX
NA21887	Femi-nino	46,XX,del(15)(q11q13).ish 15q11.2q13.1(20224751-26500067)x1	1,937673	0,000533	46,XX
NA22592	Mascu-lino	AME	1,009033	0,953239	46,XY
NA22601	Mascu-lino	46,XY, del(4)(p15.2).arr 4p16.3p15.2(55665-25591051)x1	0,998789	0,891485	46,XY
NA22991	Femi-nino	46,XX.ish del(1)(p36.32)(CEB108/T7-,SKI-,D1S3739+).arr 1p36.32(742429-5215341)x1	1,895649	0,000344	46,XX
NA23255	Mascu-lino	AME	1,001691	0,928636	46,XY
NG08006	Femi-nino	45,X	0,993433	0,00289	45,X

Contudo, as amostras NA17908 e NA17931, que haviam sido relatadas anteriormente como mosaicas pelas informações do Instituto Coriell, foram classificadas simplesmente como 47,XXY, devido a porcentagem de mosaicismo relatada ser muito baixa (4-6%), que pode ser interpretado como um artefato de técnica [20].

Em seguida, os resultados de todas as amostras foram agrupados em um gráfico para melhorar a visualização (Figura 1). E, foi possível observar que as amostras seguiram o padrão mostrado na Tabela 2. Sendo que, aquelas que não se encaixaram nesse padrão, são as amostras com mosaicismo ligado aos cromossomos sexuais.

124

125

126

127

128

129

130

131

132

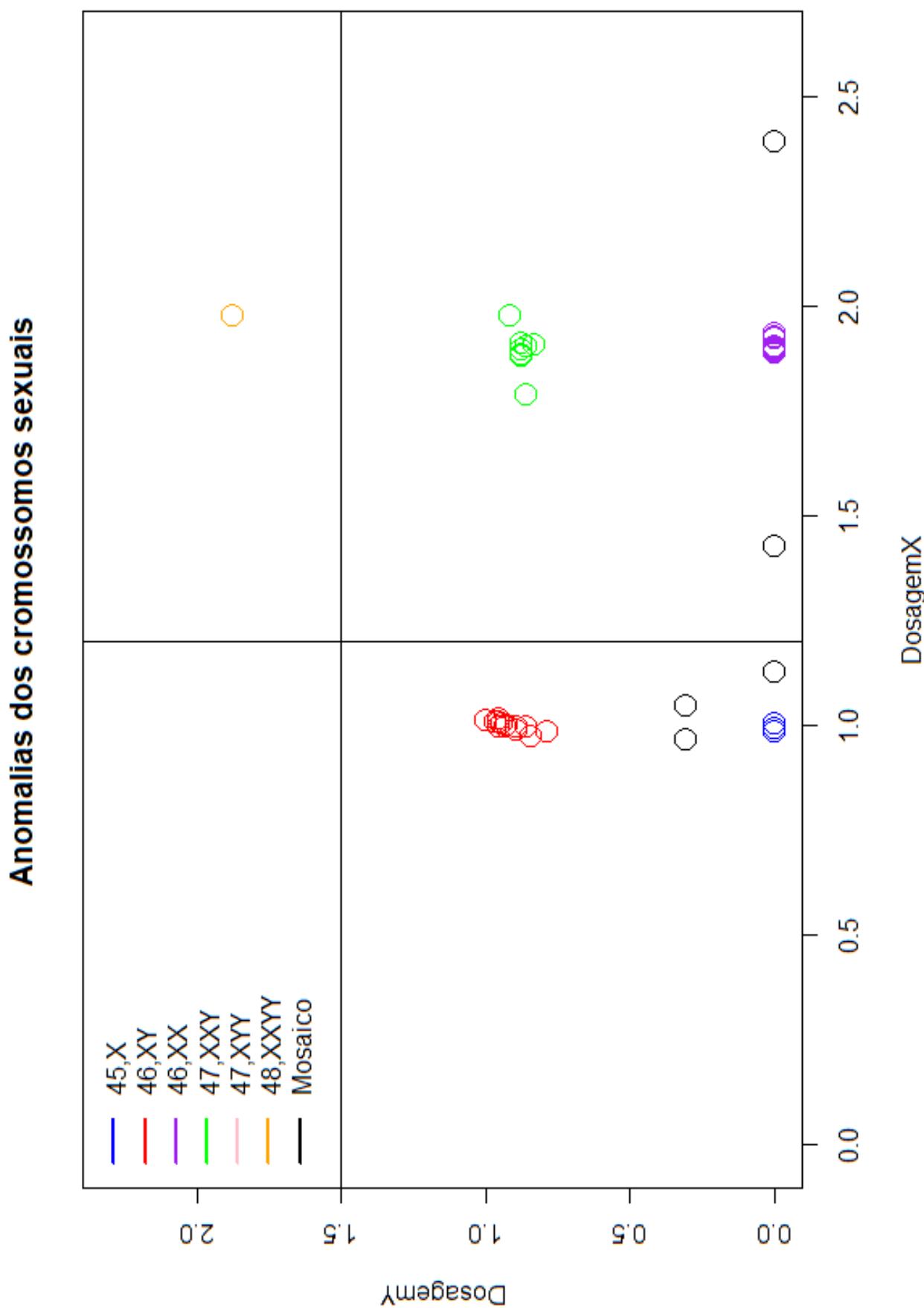


Figura 1. Disposição das amostras testadas com relação a dosagem dos cromossomos X e Y.

Tabela 2. Padrão de dosagem dos cromossomos sexuais.

135

Resultado da dosagem dos cromossomos sexuais	Classificação
Dosagem de cromossomo X entre 0,9756 e 1,0194 e dosagem de cromossomo Y < 0,786544	45,X
Dosagem de cromossomo X entre 0,9756 e 1,0194 e dosagem de cromossomo Y entre 0,786544 e 0,996845	46,XY
Dosagem de cromossomo X entre 1,7921 e 1,9817 e dosagem de cromossomo Y < 0,786544	46,XX
Dosagem de cromossomo X entre 1,7921 e 1,9817 e dosagem de cromossomo Y entre 0,786544 e 0,996845	47,XXY

Porém, não foi estabelecido padrão para cariótipos 48,XXYY, pois havia apenas uma amostra com essa característica no estudo. Mas, é possível perceber que seus resultados de dosagem dos cromossomos sexuais são aproximadamente o dobro das dosagens para as amostras com apenas 1 cromossomo de cada um deles.

136
137
138
139

Além disso, entre as amostras testadas haviam 12 com deleções parciais de cromossomos autossômicos (NA06047; NA09888; NA10160; NA13476; NA13554; NA13556; NA14131; NA20375; NA20408; NA21887; NA22601 e NA22991), uma dessas incluindo mosaicismo (NA06047); e uma com trissomia (NA03330). Mas, essas condições não interferiram na dosagem dos cromossomos sexuais.

140
141
142
143
144

4. Discussão

145
146
147
148
149
150

Em um trabalho anterior realizado por Yajie Zhao e outros [21], aplicando metodologia similar em 207.067 homens, o padrão de dosagem dos cromossomos sexuais definido foi que: dosagem de chrX > 1,2 indicava a presença de 2 cromossomos X e dosagem de chrY > 1,5 indicava a presença de 2 cromossomos Y; não sendo relatado sobre os casos com mosaicismo.

151
152
153
154
155

Aqui, estudo realizado com menor número de amostras, foi estabelecido limiares diferentes, mas semelhantes aos definidos preliminarmente por esse projeto anterior. Acredita-se que a diferença nos limites de dosagem entre os dois estudos deve-se ao número reduzido de amostras desse segundo estudo e a diferenciação de casos com mosaicismo.

156
157
158
159
160
161

Foi optado por diferenciar amostras com mosaicismo pois, para a Síndrome de Klinefelter, são menos prevalentes e geralmente apresentam sintomas clínicos mais brandos [22]; e para a síndrome de Turner, o fenótipo pode ser muito variado, desde os sinais típicos até o normal [23]. Assim, ainda é necessário discussões acerca da importância de entregar esse tipo de diagnóstico a pacientes no primeiro ano de vida, que não apresentam sintomas clínicos e talvez nunca desenvolvam essas características.

162
163
164
165
166

Por fim, este estudo se mostrou eficaz na identificação das anomalias de cromossomos sexuais, com exceção dos casos com mosaicismo relacionado a esses cromossomos. Entretanto, mosaicismo relacionado aos cromossomos autossômicos ou duplicações e deleções (parciais ou totais) ligadas a eles mostraram não influenciar na dosagem dos cromossomos sexuais.

Assim, este método demonstra ser uma alternativa interessante de complementação da triagem genética neonatal. Pois, a partir de um resultado de dosagem dos cromossomos sexuais alterado, pode ser indicado a realização de exames adicionais para confirmação diagnóstica e o devido acompanhamento médico.	167 168 169 170					
Materiais suplementares: Não há material suplementar. Todas as informações estão contidas no artigo.	171 172					
Contribuições dos autores: Conceitualização, S.S.C.M. e G.B.B.; metodologia, G.B.B. e S.S.C.M; software, S.S.C.M.; validação, S.S.C.M; análise formal, S.S.C.M e G.B.B.; investigação, S.S.C.M; recursos, G.B.B; curadoria de dados, S.S.C.M; redação—preparação do rascunho original, S.S.C.M; redação—revisão e edição, G.B.B.; visualização, S.S.C.M. e G.B.B.; supervisão, G.B.B.; administração de projetos, S.S.C.M. e G.B.B.; aquisição de financiamento, G.B.B. Todos os autores leram e concordaram com a versão publicada do manuscrito.	173 174 175 176 177 178					
Financiamento: Este trabalho foi inteiramente financiado pelo Sabin Diagnóstico e Saúde – equipamentos, reagentes e profissionais (autores).	179 180					
Institutional Review Board Statement: Não aplicável.	181					
Informed Consent Statement: Não aplicável.	182					
Declaração de Disponibilidade de Dados: Os dados serão disponibilizados antes do envio para publicação.	183 184					
Agradecimentos: Os autores agradecem ao Sabin Diagnóstico e Saúde pelo financiamento deste estudo.	185 186					
Conflitos de interesse: Os financiadores não tiveram nenhum papel na concepção do estudo; coleta, análise ou interpretação de dados; redação do manuscrito; ou na decisão de publicar os resultados. Os autores declararam não haver conflitos de interesse.	187 188 189					
Apêndice A	190					
Tabela A1. Métricas de qualidade do sequenciamento de todas as amostras testadas.	191					
Amostra	Q30	Reads alinhadas	Enriquecimento	Profundidade	Cobertura 20x	Fragmento Médio
HG00187	87.27	99.19	72.74	107.3	99.59	218
NA00232	85.39	98.93	75.34	99.8	99.51	199
NA00339	85.37	98.74	86.84	113.1	98.54	127
NA00857	87.44	99.26	75.74	103.9	99.44	207
NA01176	85.4	98.98	75.27	89	99.07	202
NA01941	86.91	99.16	75.55	101.8	99.42	206
NA02668*	87.93	99.17	88.53	28.4	47.51	82
NA03102	86.61	99.17	75.02	98.2	99.62	202
NA03330	87.63	99.25	71.54	114.6	99.77	222
NA03543	87.51	99.26	74.09	93.1	99.34	217
NA03813	87.32	99.21	76.2	87.8	99.21	195
NA04375	85.72	98.96	75.67	98.8	99.66	199
NA06047	87.27	99.22	71.33	100.9	99.59	227
NA06563	87.05	99.14	75.89	96.3	99.38	203
NA09677	84.63	98.74	75.21	85.2	99.15	200

NA09888	87.4	99.15	73.66	128.6	99.79	209
NA10160	86.97	99.16	74.11	85.5	98.93	207
NA10179	87.33	99.22	75.93	85.4	98.85	206
NA10684	87.5	99.27	76.16	106.3	99.61	206
NA13476	87.59	99.23	72.63	123.3	99.78	216
NA13554	87.15	99.14	75.39	112.8	99.55	204
NA13556	87.16	99.12	74.78	147.2	99.81	206
NA14131	87.48	99.22	72.34	125.4	99.78	219
NA14626	87.5	99.22	72.94	108.5	99.65	218
NA17729	87.35	99.23	74.13	97.9	99.67	216
NA17857	87.65	99.32	73.78	92.4	99.5	218
NA17867	87.69	99.23	75.8	95.1	99.6	209
NA17879	87.61	99.23	76.22	101.7	99.71	204
NA17908	87.7	99.3	74.63	98.3	99.69	214
NA17931	87.53	99.22	77.11	108.1	99.74	199
NA17942	87.37	99.21	73.9	122.2	99.78	212
NA18310	87.52	99.28	75.15	88.7	99.48	208
NA18949	87.17	99.18	74.98	124.5	99.75	206
NA20027	87.38	99.22	75.88	96.4	99.31	205
NA20375	87.27	99.15	74.65	142.3	99.88	209
NA20408	86.9	99.13	71.55	101.6	99.63	229
NA21887	86.28	98.96	73.25	135.8	99.79	218
NA22592	88.44	99.31	76.84	97.9	99.5	194
NA22601	87.42	99.14	73.66	121.2	99.81	208
NA22991	87.03	99.13	74.02	106.9	99.67	209
NA23255	86.27	98.83	76.91	105.3	99.59	195
NG08006	86.21	99.13	75.43	98.1	99.23	204

*Amostra reprovada nos parâmetros de qualidade (profundidade e cobertura).

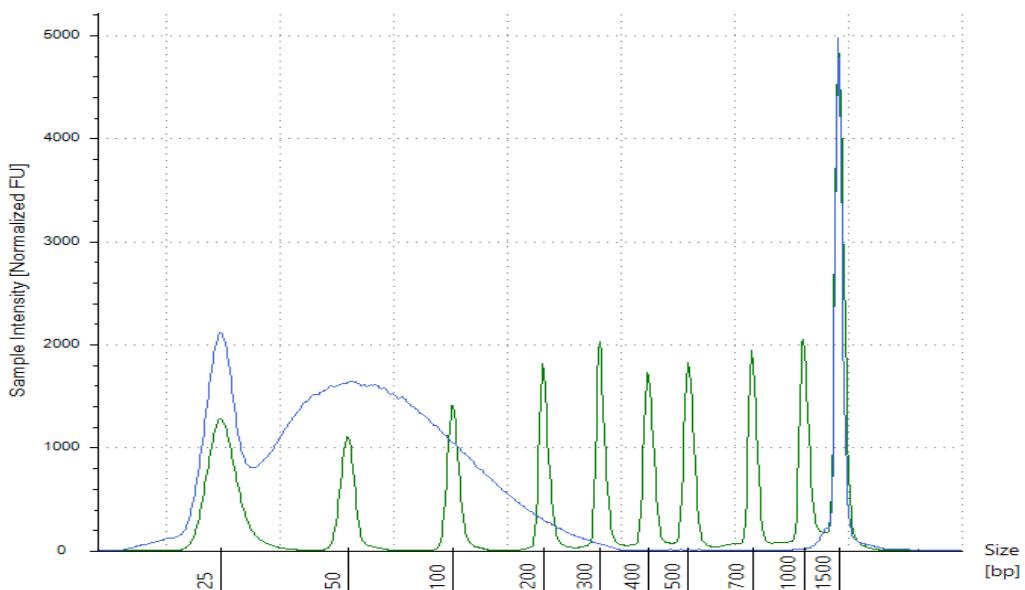


Figura A1. Resultado da eletroforese automatizada da amostra NA02668, confirmando seu estado extremamente fragmentado. Em que, para comparação dos picos, em verde temos o marcador eletrônico indicando o tamanho dos fragmentos, e, em azul, a amostra testada.

Tabela A2. Genes e pseudogenes presentes nas regiões pseudoautossômicas (PAR 1 e PAR2). Entre os genes presentes no cromossomo X, esses foram excluídos na formação do BED de análise utilizado para o cálculo da cobertura das amostras e posterior dosagem dos cromossomos sexuais.

PAR 1	PAR 2
<i>AKAP17A</i>	<i>LINC00102</i>
<i>ASMT</i>	<i>LINC00106</i>
<i>ASMTL</i>	<i>LINC00685</i>
<i>ASMTL-AS1</i>	<i>MIR3690</i>
<i>CD99</i>	<i>MIR6089</i>
<i>CD99P1</i>	<i>PLCXD1</i>
<i>CRLF2</i>	<i>PPP2R3B</i>
<i>CSF2RA</i>	<i>P2RY8</i>
<i>DHRSX</i>	<i>SHOX</i>
<i>DHRSX-JT1</i>	<i>SLC25A6</i>
<i>FABP5P13</i>	<i>XG</i>
<i>GTPBP6</i>	<i>ZBED1</i>
<i>IL3RA</i>	

Tabela A3. Genes codificantes presentes na região X-degenerada do cromossomo Y. Os únicos genes do cromossomo Y inclusos no BED de análise utilizado para o cálculo da cobertura das amostras e posterior dosagem dos cromossomos sexuais.

Genes codificantes - Região X-degenerada de Y				
<i>SRY</i>	<i>PRKY</i>	<i>NLGN4Y</i>	<i>AMELY</i>	<i>UTY</i>
<i>RPS4Y1</i>	<i>USP9Y</i>	<i>TXLNGY</i>	<i>TBL1Y</i>	<i>TMSB4Y</i>
<i>ZFY</i>	<i>DDX3Y</i>	<i>KDM5D</i>	<i>EIF1AY</i>	<i>RPS4Y2</i>

193
194
195
196
197
198
199

200
201
202

Referências

1. Congenital Anomalies. Disponível online: <https://www.who.int/health-topics/congenital-anomalies>. Acessado em 13 de julho de 2022. 203
204
205
2. 3 de Março - Dia Mundial das Anomalias Congênitas. Disponível online: <https://genetica.hupes.ufba.br/3-de-marco-dia-mundial-das-anomalias-congenitas#:~:text=Estima%2Dse%20que%202015%25%20a,gen%C3%A9ticas%20quanto%20por%20fatores%20ambientais>. Acesso em: 13 jul. 2022. 206
207
208
3. Dorfman, L.E.; Leite, J.C.L.; Giugliani, R.; Riegel, M. Microarray-Based Comparative Genomic Hybridization Analysis in Neonates with Congenital Anomalies: Detection of Chromosomal Imbalances. *Jornal de Pediatria* 2015, 91, 59–67, doi:10.1016/j.jped.2014.05.007. 209
210
211
4. Anomalias Congênitas. Disponível online: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/a/anomalias-congenitas> (acesso em: 13 jul. 2022). 212
213
5. Gravholt, C.H.; Andersen, N.H.; Conway, G.S.; Dekkers, O.M.; Geffner, M.E.; Klein, K.O.; Lin, A.E.; Mauras, N.; Quigley, C.A.; Rubin, K.; et al. Clinical Practice Guidelines for the Care of Girls and Women with Turner Syndrome: Proceedings from the TGU Cincinnati International Turner Syndrome Meeting. *European Journal of Endocrinology* 2017, 177, G1–G70, doi:10.1530/EJE-17-0430. 214
215
216
217
6. Powell-Hamilton, N.N. Considerações Gerais Sobre Anomalias Dos Cromossomos Sexuais. Disponível online: <https://www.msdmanuals.com/pt-br/casa/problemas-de-sa%C3%BAde-infantil/anomalias-cromoss%C3%B4micas-ger%C3%A9ticas/considera%C3%A7%C3%A9s-gerais-sobre-anomalias-dos-cromossomos-sexuais>. 218
219
220
7. Figueiredo, F.A.; Fireman, M.A.A. Ministério da Saúde Secretaria de Atenção à Saúde Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégico; 2018; Disponível online: https://saude.campinas.sp.gov.br/assist_farmaceutica/pcdt/sindrome_turner/PCDT_Sindrome-de-Turner.pdf (acesso em: 14 jul. 2022). 221
222
223
8. Marqui, A.B.T. Síndrome de Klinefelter: Uma Condição Genética Com Diagnóstico Tardio e Sub-Diagnosticada. *Rev. Med. (São Paulo)* 2021, 100, i–iv, doi:10.11606/issn.1679-9836.v100i5pi-iv. 224
225
9. Klinefelter, H.F.; Reifenstein, E.C.; Albright, F. Syndrome Characterized by Gynecomastia, Aspermatogenesis without A-Leydigism, and Increased Excretion of Follicle-Stimulating Hormone1. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 1942, 2615–627, doi:10.1210/jcem-2-11-615. 226
227
228
10. Legro, R.S. Turner Syndrome: New Insights into an Old Disorder. *Fertility and Sterility* 2012, 98, 773–774, doi:10.1016/j.fertnstert.2012.07.1138. 229
230
11. Araújo, A.C.P.; Morais, S.C.; Batista, N.J.C. A SÍNDROME DE TURNER E AS PERSPECTIVAS PARA O TRATAMENTO: UMA REVISÃO INTEGRATIVA. *RECIMA21* 2022, 3, e361519, doi:10.47820/recima21.v3i6.1519. 231
232
12. Marqui, A.B.T. de Cariótipos Possíveis Na Síndrome de Klinefelter: Uma Revisão Narrativa / Possible Karyotypes in the Syndrome Klinefelter: A Narrative Review. *Diagn Tratamento* 2021, 26, 8. Disponível online: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/re-source/pt/biblio-1247971#:~:text=Os%20signais%20cl%C3%ADnicos%20da%20s%C3%ADndrome,1%20em%20cada%20500%20homens> (Acesso em: 17 jul. 2022). 233
234
235
236
13. Quick Referenceq. Disponível online: https://assets.thermofisher.com/TFS-ArtsAssets/BID/manuals/MAN0017210_Qubit_4_Assays_QR.pdf (acesso em 13 fev. 2023). 237
238
14. XGen™ DNA Library Prep EZ Kit XGen DNA Library Prep EZ UNI Kit. Diponível online: https://sfvideo.blob.core.windows.net/sitefinity/docs/default-source/protocol/xgen-dna-library-prep-ez-kit-and-xgen-dna-library-prep-ez-uni-kits-protocol.pdf?sfvrsn=57b1e007_10 (Acessado em 13 fev. 2023). 239
240
241
15. XGen™ Hybridization Capture of DNA Libraries. Disponível online: https://sfvideo.blob.core.windows.net/sitefinity/docs/default-source/protocol/xgen-hybridization-capture-of-dna-libraries-protocol.pdf?sfvrsn=9da6e007_16 (acesso em 13 fev. 2023). 242
243
16. xGen™ Inherited Diseases Hybridization Panel. Disponível online: <https://www.idtdna.com/pages/products/next-generation-sequencing/workflow/xgen/ngs-hybridization-capture/pre-designed-hyb-cap-panels/inherited-disease-hyb-panel> (acesso em 13 fev. 2023). 244
245
246
17. xGen™ Human Mitochondrial DNA (mtDNA) Hybridization Panel. Disponível online: <https://www.idtdna.com/pages/products/next-generation-sequencing/workflow/xgen/ngs-hybridization-capture/pre-designed-hyb-cap-panels/human-mtdna-hyb-panel>. (Acessado em 13 fev. 2023). 247
248
249
18. Pseudoautosomal Regions. Disponível online: <https://www.genenames.org/data/genegroup/#!/group/714> (acesso em 13 fev. 2023). 250
251

19. Skaletsky, H.; Kuroda-Kawaguchi, T.; Minx, P.J.; Cordum, H.S.; Hillier, L.; Brown, L.G.; Repping, S.; Pyntikova, T.; Ali, J.; Bieri, T.; et al. The Male-Specific Region of the Human Y Chromosome Is a Mosaic of Discrete Sequence Classes. *Nature* 2003, 423, 825–837, doi:10.1038/nature01722. 252
253
254
20. Rodrigues, M.A.; Peterle, B.R.M.; Costa, E.D.S.; Silva, A.F.A. da; Ribeiro, P.D. Prevalência de Mosaicismo Cromossômico Em 2.500 Casos Realizados Em Um Laboratório de Genética No Estado Do Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Vértices* 2020, 22, 579–589, doi:10.19180/1809-2667.v22n32020p579-589. 255
256
257
21. Zhao, Y.; Gardner, E.J.; Tuke, M.A.; Zhang, H.; Pietzner, M.; Koprulu, M.; Jia, R.Y.; Ruth, K.S.; Wood, A.R.; Beaumont, R.N.; et al. Detection and Characterization of Male Sex Chromosome Abnormalities in the UK Biobank Study. *Genetics in Medicine* 2412022, 24, 1909–1919, doi:10.1016/j.gim.2022.05.011. 258
259
260
22. Samplaski, M.K.; Lo, K.C.; Grober, E.D.; Millar, A.; Dimitromanolakis, A.; Jarvi, K.A. Phenotypic Differences in Mosaic Klinefelter Patients as Compared with Non-Mosaic Klinefelter Patients. *Fertility and Sterility* 2014, 101, 950–955, doi:10.1016/j.fert.2013.12.051. 261
262
263
23. Síndrome de Turner. Disponível online: <https://www.msdmanuals.com/pt-br/profissional/pediatrica/anomalias-gen%C3%A9ticas-e-cromoss%C3%B4micas/s%C3%ADndrome-de-turner> (acesso em 13 fev. 2023). 264
265

Isenção de responsabilidade/Nota do editor: As declarações, opiniões e dados contidos em todas as publicações são de responsabilidade exclusiva do(s) autor(es) e colaborador(es) e não do MDPI e/ou do(s) editor(es). O MDPI e/ou o(s) editor(es) se isentam de responsabilidade por qualquer dano a pessoas ou propriedade resultante de quaisquer ideias, métodos, instruções ou produtos referidos no conteúdo. 266
267
268
269

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA REVISÃO DE LITERATURA

- ARAÚJO, Amanda Caroline dos Passos *et al.* A SÍNDROME DE TURNER E AS PERSPECTIVAS PARA O TRATAMENTO: uma revisão integrativa. **Recima21 - Revista Científica Multidisciplinar**, vol. 3, nº 6, junho, 2022. Disponível em: <https://recima21.com.br/index.php/recima21/article/view/1519/1191>. Acesso em: 17 jul. 2022.
- BIESECKER, L. G.; SPINNER, N. B. A genomic view of mosaicism and human disease. **Nature Reviews Genetics**, v. 14, n. 5, p. 307–320, maio 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/nrg3424>>. Acesso em: 12 dez. 2022.
- BRASIL. Portaria conjunta nº 15, de 09 de maio de 2018. **Aprova o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da Síndrome de Turner**. Disponível em: pcdt_sindrome_de_turner.pdf (www.gov.br). Acesso em: 14 jul. 2022.
- DAHUI, Qin. Next-generation sequencing and its clinical application. **Cancer Biology & Medicine**, v. 16, n. 1, p. 4-10, 1 fevereiro. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.20892/j.issn.2095-3941.2018.0055>. Acesso em: 07 set. 2022.
- DANECEK, P. *et al.* Twelve years of SAMtools and BCFtools. **GigaScience**, v. 10, n. 2, p. giab008, 29 jan. 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/gigascience/giab008>>. Acesso em: 13 fev. 2023.
- DORFMAN, Luiza Emy *et al.* Microarray-based comparative genomic hybridization analysis in neonates with congenital anomalies: detection of chromosomal imbalances. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/jped/a/LRjN5cJWGdQnKkCCcf95Gxj/?lang=pt&format=pdf>. Acesso em: 13 jul. 2022.
- EDITOR in the field The Coriell Institute for Medical Research. **Nature Genetics**, vol. 37, nº 1, janeiro, 2005. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/ng0105-2#citeas>. Acesso em: 19 jul. 2022.
- GENOME REFERENCE CONSORTIUM. GRCh38.p14. **National Library of Medicine**, 03 fevereiro 2022. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/assembly/GCA_000001405.29. Acesso em: 08 set. 2022
- GÓES, Andréa Carla de Souza; OLIVEIRA, Bruno Vinicius Ximenes. Projeto Genoma Humano: um retrato da construção do conhecimento científico sob a ótica da revista ciência hoje. **Ciência & Educação (Bauru)**, v. 20, n. 3, p. 561-577,

setembro, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/1516-73132014000300004>. Acesso em: 08 set. 2022.

GRAVHOLT, Claus H. et al. *Clinical practice guidelines for the care of girls and women with Turner syndrome: proceedings from the 2016 Cincinnati International Turner Syndrome Meeting*. **European Journal Of Endocrinology**. Vol. 177, ed. 3, p. 1-70, setembro, 2017. Disponível em: <https://eje.bioscientifica.com/view/journals/eje/177/3/EJE-17-0430.xml>. Acesso em: 14 jul. 2022.

ILLUMINA Inc. Illumina, 2022. *All systems*. Disponível em: <https://www.illumina.com/systems/sequencing-platforms/nextseq.html>. Acesso em: 20 jul. 2022.

JORDAN, Bertrand. *Le génome humain... encore?*, **Médecine/Sciences**, v. 38, n. 6-7, p. 509-510, junho, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1051/medsci/2022086>. Acesso em: 08 set. 2022.

KLINEFELTER, Harry F. et al. *Syndrome characterized by gynaecomastia, aspermatogenesis without a-Leydigism, and increase secretion of follicle-stimulating hormone*. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**. Vol. 2, ed. 11, p. 615-627, novembro, 1942. Disponível em: Síndrome Caracterizada pela Ginecomastia, Aspermato-gênese sem A-Leydigism, e Aumento da Excreção do Hormônio Estimulante folículo1 | O Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism | Oxford Academic (oup.com). Acesso em: 17 jul. 2022.

KOH, Eitetsu; CHOI, Jin; NAMIKI, Mikio. *Y chromosome and new concept of azoospermia factor*. **Reproductive Medicine And Biology**, v. 4, n. 2, p. 123-127, 3 maio 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1447-0578.2005.00097.x>. Acesso em: 08 set. 2022.

LEGRO, Richard S. Síndrome de Turner: novas percepções sobre um velho transtorno. **Fertility and Sterility**, vol. 98, n° 4, p. 773-774, outubro, 2012. Disponível em: Síndrome de Turner: novos insights sobre um velho transtorno - Fertilidade e Esterilidade (fertstert.org). Acesso em: 17 jul. 2022.

MANGS, A. Helena; MORRIS, Brian. *The Human Pseudoautosomal Region (PAR): origin, function and future*. **Current Genomics**, v. 8, n. 2, p. 129-136, 1 abril 2007. Disponível em: [10.2174/138920207780368141](https://doi.org/10.2174/138920207780368141). Acesso em: 08 set. 2022.

MARQUI, Alessandra Bernadete Trovó de. Cariótipos possíveis na síndrome de Klinefelter: uma revisão narrativa. **Diagn. Tratamento**. 2021a. Disponível em:

Cariótipos possíveis na síndrome de Klinefelter: uma revisão narrativa | Diagn. tratamento;26(1): 4-11, jan.-mar. 2021. quad, fig | LILACS (bvsalud.org). Acesso em: 17 jul. 2022.

MARQUI, Alessandra Bernadete Trovó de. Síndrome de Klinefelter: uma condição genética com diagnóstico tardio e sub-diagnosticada. **Revista de Medicina**. Vol. 100, nº 5, p. 1-4, dez, 2021b. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.11606/issn.1679-9836.v100i5pi-iv>. Acesso em: 16 jul. 2022.

MAXAM, A. M.; GILBERT, W. *A new method for sequencing DNA*. **PNAS**, USA, v. 74, n. 2, p. 560-564, fevereiro, 1977. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.74.2.560>. Acesso em: 05 set. 2022.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (Brasil). **Anomalias Congênitas**. 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/a/anomalias-congenitas>. Acesso em: 13 jul. 2022.

MONTEIRO, B. et al. *Evolutionary dynamics of the human pseudoautosomal regions*. **PLOS Genetics**, v. 17, n. 4, p. e1009532, 19 abr. 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1009532>>. Acesso em: 08 set. 2022.

NOLETO, C. R Studio: o que é, como baixar, instalar e usar esse ambiente?, **betrybe**. 03 nov. 2022. Disponível em: <<https://blog.betrybe.com/ferramentas/r-studio>>. Acesso em: 13 fev. 2023.

OLIVER, Gavin R; HART, Steven N; KLEE, Eric W. *Bioinformatics for Clinical Next Generation Sequencing*. **Clinical Chemistry**, v. 61, n. 1, p. 124-135, janeiro 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1373/clinchem.2014.224360>. Acesso em: 07 set. 2022.

PANIZA, Ana Carolina. Pipelines de bioinformática e as métricas de qualidade mais importantes na prática clínica. LinkedIn, 1, setembro. 2021. Disponível em: <https://www.linkedin.com/pulse/pipelines-de-bioinform%C3%A1tica-e-m%C3%A9tricas-qualidade-mais-ana-carolina/?originalSubdomain=pt>. Acesso em: 08 set. 2022.

POWELL-HAMILTON, Nina N. **Considerações gerais sobre anomalias dos cromossomos sexuais**. 2020. Disponível em: Considerações gerais sobre anomalias dos cromossomos sexuais - Problemas de saúde infantil - Manual MSD Versão Saúde para a Família (msdmanuals.com). Acesso em: 14 jul. 2022.

- ROSS, M. T. et al. *The DNA sequence of the human X chromosome*. **Nature**, v. 434, n. 7031, p. 325–337, mar. 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nature03440>. Acesso em: 08 set. 2022.
- ROY, Somak et al. *Standards and Guidelines for Validating Next-Generation Sequencing Bioinformatics Pipelines*. **The Journal Of Molecular Diagnostics**, v. 20, n. 1, p. 4-27, janeiro, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jmoldx.2017.11.003>. Acesso em: 07 set. 2022.
- SANGER, F.; NICKLEN, S.; COULSON, Anda. R. *DNA sequencing with chain-terminating inhibitors*. **PNAS**, USA, v. 74, n. 12, p. 5463-5467, dezembro, 1977. Disponível em: <https://doi.org/10.1073%2Fpnas.74.12.5463>. Acesso em: 05 set. 2022.
- SCHUSTER, S. *Next-generation sequencing transforms today's biology*. **Nature**, v. 5, p. 16–18, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nmeth1156>. Acesso em: 05 set. 2022.
- SERVIÇO DE GENÉTICA MÉDICA DO COMPLEXO HOSPITALAR UNIVERSITÁRIO PROFESSOR EDGARD SANTOS. **3 de março - Dia Mundial das Anomalias Congênitas**. Bahia, 2021. Disponível em: <https://genetica.hupes.ufba.br/3-de-marco-dia-mundial-das-anomalias-congenitas#:~:text=Estima%2Dse%20que%2015%25%20a,gen%C3%A9ticas%20que%20por%20fatores%20ambientais>. Acesso em: 13 jul. 2022.
- SKALETSKY, Helen et al. *The male-specific region of the human Y chromosome is a mosaic of discrete sequence classes*. **Nature**, v. 423, n. 6942, p. 825-837, junho, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nature01722>. Acesso em: 08 set. 2022.
- Target enrichment with hybridization capture**. Disponível em: <<https://www.idtdna.com/pages/products/next-generation-sequencing/methods/targeted-dna-sequencing/xgen-hybridization-capture>>. Acesso em: 12 dez. 2022.
- The R Project for Statistical Computing**. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6622-6_1>. Acesso em: 13 fev. 2023.
- VERMA, M.; KULSHRESTHA, S.; PURI, A. *Genome Sequencing*. Em: KEITH, J. M. (Ed.). **Bioinformatics. Methods in Molecular Biology**. New York, NY: Springer New York, 2017. v. 1525p. 3–33. Disponível em: Acesso em: 27 set. 2022.

- VOCKEL, M. et al. *The X chromosome and male infertility*. ***Human Genetics***, v. 140, n. 1, p. 203–215, jan. 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00439-019-02101-w>>. Acesso em: 08 set. 2022.
- WATSON, J. D.; CRICK, F. H. C. *Molecular Structure of Nucleic Acids: A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid*. ***Nature***, v. 171, n. 4356, p. 737–738, 1953. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/171737a0>. Acesso em: 05 set. 2022.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. ***Congenital anomalies***. 2022. Disponível em: <https://www.who.int/health-topics/congenital-anomalies>. Acesso em: 13 jul. 2022.
- ZHAO, Yajie et al. *Detection and characterization of male sex chromosome abnormalities in the UK Biobank study*. ***Genetics In Medicine***, junho, 2022. Disponível em: [https://www.gimjournal.org/article/S1098-3600\(22\)00777-8/fulltext](https://www.gimjournal.org/article/S1098-3600(22)00777-8/fulltext). Acesso em: 19 jul. 2022.

7. NORMAS DE SUBMISSÃO DA REVISTA “GENES”

Visão geral da submissão de manuscritos

Tipos de Publicações

Devem ser fornecidos pormenores experimentais completos para que os resultados possam ser reproduzidos. Genes requer que os autores publiquem todos os controles experimentais e disponibilizem conjuntos de dados completos sempre que possível (veja as diretrizes sobre Materiais Suplementares e referências a dados não publicados).

Os manuscritos submetidos à Genes não devem ser publicados anteriormente nem estar sob consideração para publicação em outro periódico. Os principais tipos de artigos estão listados abaixo e uma lista abrangente de tipos de artigos pode ser encontrada aqui.

Processo de Submissão

Manuscritos para Genes devem ser submetidos on-line em susy.mdpi.com. O autor submetido, que geralmente é o autor correspondente, é responsável pelo manuscrito durante o processo de submissão e revisão por pares. O autor submissor deve garantir que todos os coautores elegíveis tenham sido incluídos na lista de autores (leia os critérios para se qualificar para a autoria) e que todos tenham lido e aprovado a versão submetida do manuscrito. Para submeter o seu manuscrito, registe-se e inicie sessão no site de submissão. Depois de se registrar, clique aqui para ir para o formulário de inscrição para Genes. Todos os coautores podem ver os detalhes do manuscrito no sistema de submissão, se eles se registrarem e fizerem login usando o endereço de e-mail fornecido durante a submissão do manuscrito.

Formatos de arquivo aceitos

Os autores são encorajados a usar o modelo do Microsoft Word ou o modelo LaTeX para preparar seu manuscrito. O uso do arquivo de modelo reduzirá substancialmente o tempo para concluir a edição de cópia e a publicação de manuscritos aceitos. A quantidade total de dados para todos os arquivos não deve exceder 120 MB. Se isso for um problema, entre em contato com o Escritório Editorial genes@mdpi.com. Os formatos de arquivo aceitos são:

Microsoft Word: Os manuscritos preparados no Microsoft Word devem ser convertidos em um único arquivo antes da submissão. Ao preparar manuscritos no Microsoft Word,

recomendamos que você use o arquivo de modelo Genes do Microsoft Word. Por favor, insira seus gráficos (esquemas, figuras, etc.) no texto principal após o parágrafo de sua primeira citação.

Latex: Os manuscritos preparados em LaTeX devem ser agrupados em uma pasta ZIP (incluindo todos os arquivos e imagens de origem, para que o Escritório Editorial possa recompilar o PDF enviado). Ao preparar manuscritos em LaTeX, encorajamos você a usar os arquivos de modelo Genes LaTeX. Agora você também pode usar o aplicativo on-line writeLaTeX para enviar artigos diretamente para a Genes. O arquivo de modelo MDPI LaTeX deve ser selecionado na galeria de modelos writeLaTeX.

Arquivos complementares: Pode ser qualquer formato, mas é recomendável que você use formatos comuns e não proprietários sempre que possível (veja abaixo para obter mais detalhes).

Isenção de responsabilidade: O uso desses modelos destina-se exclusivamente à submissão à revista para revisão por pares e estritamente limitado a esse propósito e não pode ser usado para postagem on-line em servidores de preprints ou outros sites.

Submissão em formato livre

A Genes agora aceita envio de formato livre:

Não temos requisitos rígidos de formatação, mas todos os manuscritos devem conter as seções necessárias: Informações do Autor, Resumo, Palavras-chave, Introdução, Materiais e Métodos, Resultados, Conclusões, Figuras e Tabelas com Legendas, Informações de Financiamento, Contribuições do Autor, Conflito de Interesses e outras Declarações de Ética. Consulte as Instruções do Diário para Autores para obter mais detalhes.

Suas referências podem estar em qualquer estilo, desde que você use a formatação consistente por toda parte. É essencial incluir o(s) nome(s) do(s) autor(es), título da revista ou do livro, título do artigo ou capítulo (quando necessário), ano de publicação, volume e número (se for caso disso) e paginação. Os números DOI (Digital Object Identifier) não são obrigatórios, mas altamente encorajados. O pacote de software de bibliografia EndNote, Zotero, Mendeley, Reference Manager são recomendados.

Quando o seu manuscrito atingir o estágio de revisão, você será solicitado a formatar o manuscrito de acordo com as diretrizes da revista.

Carta de apresentação

Uma carta de apresentação deve ser incluída em cada submissão do manuscrito. Deve ser conciso e explicar por que o conteúdo do artigo é significativo, colocando os

achados no contexto do trabalho existente. Deve explicar por que o manuscrito se encaixa no escopo da revista.

Quaisquer submissões prévias do manuscrito para periódicos MDPI devem ser reconhecidas. Se este for o caso, é altamente recomendável que o ID do manuscrito anterior seja fornecido no sistema de submissão, o que facilitará seu processo de submissão atual. Os nomes dos revisores propostos e excluídos devem ser fornecidos no sistema de submissão, não na carta de apresentação.

Todas as cartas de apresentação são obrigadas a incluir as declarações:

Confirmamos que nem o manuscrito nem quaisquer partes de seu conteúdo estão atualmente sob consideração ou publicados em outro periódico.

Todos os autores aprovaram o manuscrito e concordam com sua submissão a (nome da revista).

Biografia do Autor

Os autores são encorajados a adicionar uma biografia (máximo de 150 palavras) à submissão e publicá-la no SciProfiles. Este deve ser um parágrafo único e deve conter os seguintes pontos:

Nomes completos dos autores seguidos dos cargos atuais;

Histórico educacional, incluindo informações da instituição e ano de graduação (tipo e nível de diploma recebido);

Experiência de trabalho;

Interesses de pesquisa atuais e anteriores;

Associações de sociedades profissionais e prêmios recebidos.

Nota para Autores Financiados pelos Institutos Nacionais de Saúde (NIH)

Esta revista deposita automaticamente artigos no PubMed Central após a publicação de uma edição. Os autores não precisam enviar separadamente seus trabalhos através do NIH Manuscript Submission System (NIHMS, <http://nihms.nih.gov/>).

Preparação do Manuscrito

Considerações Gerais

Os manuscritos de pesquisa devem incluir:

Matéria da frente: Título, Lista de autores, Afiliações, Resumo, Palavras-chave.

Seções de manuscritos de pesquisa: Introdução, Materiais e Métodos, Resultados, Discussão, Conclusões (opcional).

Matéria de Fundo: Materiais Suplementares, Agradecimentos, Contribuições do Autor, Conflitos de Interesse, Referências.

Os manuscritos de revisão devem incluir a matéria da frente, as seções de revisão da literatura e a matéria de trás. O arquivo de modelo também pode ser usado para preparar a matéria frontal e traseira do seu manuscrito de revisão. Não é necessário seguir a estrutura restante. Revisões estruturadas e meta-análises devem usar a mesma estrutura que os artigos de pesquisa e garantir que eles estejam em conformidade com as diretrizes do PRISMA.

Resumo Gráfico:

Um resumo gráfico (GA) é uma imagem que aparece ao lado do resumo do texto no Índice. Além de resumir o conteúdo, ele deve representar o tópico do artigo de forma que chame a atenção. Além disso, não deve ser exatamente o mesmo que a Figura no papel ou apenas uma simples superposição de várias subfiguras. Observe que o GA deve ser uma obra de arte original e inédita. Quaisquer selos postais, moeda de qualquer país ou itens de marca registrada não devem ser incluídos nele.

O GA deve ser uma ilustração ou diagrama de alta qualidade em qualquer um dos seguintes formatos: PNG, JPEG, TIFF ou SVG. O texto escrito em um GA deve ser claro e fácil de ler, usando uma das seguintes fontes: Times, Arial, Courier, Helvetica, Ubuntu ou Calibri.

O tamanho mínimo necessário para o GA é de 560 × 1100 pixels (altura × largura). O tamanho deve ser de alta qualidade, a fim de reproduzir bem.

Acrônimos/Abreviações/Iniciais devem ser definidos na primeira vez que aparecem em cada uma das três seções: o resumo; o texto principal; a primeira figura ou tabela. Quando definido pela primeira vez, o acrônimo/abreviação/inicialismo deve ser adicionado entre parênteses após o formulário escrito.

Devem ser utilizadas Unidades SI (Sistema Internacional de Unidades). Unidades imperiais, costumeiras dos EUA e outras devem ser convertidas em unidades SI sempre que possível.

Os números de acesso das sequências de RNA, DNA e proteínas usadas no manuscrito devem ser fornecidos na seção Materiais e Métodos. Consulte também a seção sobre Deposição de Sequências e Dados de Expressão.

Equações: Se você estiver usando o Word, use o Microsoft Equation Editor ou o complemento MathType. As equações devem ser editáveis pelo escritório editorial e não aparecer em um formato de imagem.

Dados de pesquisa e materiais complementares: Observe que a publicação do seu manuscrito implica que você deve disponibilizar todos os materiais, dados e protocolos

associados à publicação aos leitores. Divulgar na fase de submissão quaisquer restrições à disponibilidade de materiais ou informações. Leia as informações sobre Materiais Suplementares e Depósito de Dados para obter diretrizes adicionais. Pré-inscrição: Quando os autores tiverem estudos pré-registrados ou planos de análise, os links para o pré-registro devem ser fornecidos no manuscrito. Diretrizes e normas: O MDPI segue padrões e diretrizes para certos tipos de pesquisa. Consulte https://www.mdpi.com/editorial_process para obter mais informações.

Matéria de Frente

Estas seções devem aparecer em todos os tipos de manuscritos

Título: O título do seu manuscrito deve ser conciso, específico e relevante. Deve identificar se o estudo relata dados de ensaios (humanos ou animais) ou se é uma revisão sistemática, meta-análise ou estudo de replicação. Quando os nomes de genes ou proteínas são incluídos, o nome abreviado em vez do nome completo deve ser usado. Por favor, não inclua formas abreviadas ou curtas do título, como um título ou cabeça em execução. Estes serão removidos pela nossa Redação Gráfica.

Lista de Autores e Afiliações: O nome e sobrenome completos dos autores devem ser fornecidos. As iniciais de qualquer nome do meio podem ser adicionadas. O formato padrão PubMed/MEDLINE é usado para afiliações: informações completas de endereço, incluindo cidade, código postal, estado/província e país. Pelo menos um autor deve ser designado como o autor correspondente, e seu endereço de e-mail e outros detalhes incluídos no final da seção de afiliação. Após a aceitação, atualizações de nomes de autores ou afiliações podem não ser permitidas. Contribuições iguais: os autores que contribuíram igualmente devem ser marcados com um símbolo sobreescrito (†). O símbolo deve ser incluído abaixo das afiliações, e a seguinte declaração acrescentou: "Esses autores contribuíram igualmente para este trabalho". Os papéis iguais dos autores também devem ser adequadamente divulgados na declaração de contribuições do autor. Por favor, leia os critérios para se qualificar para a autoria.

Abstrair: O resumo deve ter um total de cerca de 200 palavras no máximo. O resumo deve ser de parágrafo único e deve seguir o estilo de resumos estruturados, mas sem títulos: 1) Antecedentes: Coloque a questão abordada em um contexto amplo e destaque o objetivo do estudo; 2) Métodos: Descreva brevemente os principais métodos ou tratamentos aplicados. Incluir quaisquer números de pré-registro

relevantes e espécies e estirpes de quaisquer animais utilizados. 3) Resultados: Resumir os principais achados do artigo; e 4) Conclusão: Indique as principais conclusões ou interpretações. O resumo deve ser uma representação objetiva do artigo: não deve conter resultados que não sejam apresentados e fundamentados no texto principal e não deve exagerar as principais conclusões.

Keywords: Três a dez palavras-chave pertinentes precisam ser adicionadas após o resumo. Recomendamos que as palavras-chave sejam específicas do artigo, mas razoavelmente comuns dentro da disciplina de assunto.

Seções de Manuscritos de Pesquisa

Introdução: A introdução deve colocar brevemente o estudo em um amplo contexto e destacar por que é importante. Deve definir o propósito do trabalho e seu significado, incluindo hipóteses específicas que estão sendo testadas. O estado atual do campo de pesquisa deve ser revisado cuidadosamente e as principais publicações citadas. Por favor, destaque hipóteses controversas e divergentes quando necessário. Por fim, mencione brevemente o objetivo principal do trabalho e destaque as principais conclusões. Mantenha a introdução compreensível para os cientistas que trabalham fora do tópico do artigo.

Materiais e Métodos: Eles devem ser descritos com detalhes suficientes para permitir que outros repliquem e se baseiem nos resultados publicados. Novos métodos e protocolos devem ser descritos em detalhes, enquanto métodos bem estabelecidos podem ser brevemente descritos e adequadamente citados. Dê o nome e a versão de qualquer software usado e deixe claro se o código de computador usado está disponível. Inclua quaisquer códigos de pré-registro.

Resultados: Fornecer uma descrição concisa e precisa dos resultados experimentais, sua interpretação, bem como as conclusões experimentais que podem ser tiradas.

Discussão: Os autores devem discutir os resultados e como eles podem ser interpretados em perspectiva de estudos anteriores e das hipóteses de trabalho. Os achados e suas implicações devem ser discutidos no contexto mais amplo possível e as limitações do trabalho destacadas. Futuras direções de pesquisa também podem ser mencionadas. Esta seção pode ser combinada com Resultados.

Conclusões: Esta seção não é obrigatória, mas pode ser adicionada ao manuscrito se a discussão for extraordinariamente longa ou complexa.

Patentes: Esta seção não é obrigatória, mas pode ser adicionada se houver patentes resultantes do trabalho relatado neste manuscrito.

Matéria de Volta

Materiais Complementares: Descreva qualquer material suplementar publicado online ao lado do manuscrito (figura, tabelas, vídeo, planilhas, etc.). Indicar o nome e o título de cada elemento da seguinte forma: Figura S1: título, quadro S1: título, etc.

Financiamento: Todas as fontes de financiamento do estudo devem ser divulgadas. Indique claramente as subvenções que recebeu em apoio do seu trabalho de investigação e se recebeu fundos para cobrir os custos de publicação. Observe que alguns financiadores não reembolsarão as taxas de processamento de artigos (APC) se o financiador e o número de concessão não estiverem clara e corretamente identificados no documento. As informações de financiamento podem ser inseridas separadamente no sistema de submissão pelos autores durante a submissão de seu manuscrito. Essas informações de financiamento, se disponíveis, serão depositadas no FundRef se o manuscrito for finalmente publicado. Por favor, adicione: "Esta pesquisa não recebeu financiamento externo" ou "Esta pesquisa foi financiada pelo número de concessão [xxx] [xxx]" e "A APC foi financiada por [XXX]" nesta seção. Verifique cuidadosamente se os detalhes fornecidos são precisos e use a ortografia padrão dos nomes das agências de financiamento em <https://search.crossref.org/funding>, quaisquer erros podem afetar seu financiamento futuro.

Confirmações: Nesta seção, você pode reconhecer qualquer apoio dado que não seja coberto pelas seções de contribuição ou financiamento do autor. Isso pode incluir suporte administrativo e técnico ou doações em espécie (por exemplo, materiais usados para experimentos).

Contribuições dos Autores: Espera-se que cada autor tenha feito contribuições substanciais para a concepção ou concepção do trabalho; ou a aquisição, análise ou interpretação de dados; ou a criação de novos softwares utilizados na obra; ou ter redigido a obra ou a revisto substantivamente; E aprovou a versão submetida (e a versão substancialmente editada pela equipe da revista que envolve a contribuição do autor para o estudo); E concorda em ser pessoalmente responsável pelas próprias contribuições do autor e por garantir que as questões relacionadas à precisão ou integridade de qualquer parte do trabalho, mesmo aquelas em que o autor não esteve pessoalmente envolvido, sejam adequadamente investigadas, resolvidas e documentadas na literatura.

Para artigos de pesquisa com vários autores, um pequeno parágrafo especificando

sus contribuições individuais deve ser fornecido. Devem ser utilizadas as seguintes afirmações "Conceptualização, X.X. e Y.Y.; Metodologia, X.X.; Software, X.X.; Validação, X.X., Y.Y. e Z.Z.; Análise Formal, X.X.; Investigação, X.X.; Recursos, X.X.; Curadoria de Dados, X.X.; Redação – Preparação do Rascunho Original, X.X.; Redação – Revisão e Edição, X.X.; Visualização, X.X.; Supervisão, X.X.; Administração de Projetos, X.X.; Funding Acquisition, Y.Y.", por favor, volte-se para a taxonomia CRediT para a explicação do termo. Para mais informações sobre o c, veja aqui. "A autoria deve incluir e ser limitada àqueles que contribuíram substancialmente para o trabalho. Por favor, leia atentamente a seção sobre os critérios para se qualificar para a autoria".

Declaração do Comitê de Revisão Institucional: Nesta seção, adicione a Declaração do Comitê de Revisão Institucional e o número de aprovação para estudos envolvendo humanos ou animais. Por favor, note que o Escritório Editorial pode pedir-lhe mais informações. Por favor, acrescente "O estudo foi conduzido de acordo com as diretrizes da Declaração de Helsinque, e aprovado pelo Conselho de Revisão Institucional (ou Comitê de Ética) do NOME DO INSTITUTO (código de protocolo XXX e data de aprovação)." OU "A revisão ética e a aprovação foram dispensadas para este estudo, devido à RAZÃO (por favor, forneça uma justificativa detalhada)." OU "Não aplicável" para estudos que não envolvam seres humanos ou animais. Você também pode optar por excluir essa declaração se o estudo não envolver humanos ou animais.

Declaração de Consentimento Livre e Esclarecido: Qualquer artigo de pesquisa que descreva um estudo envolvendo seres humanos deve conter esta afirmação. Por favor, adicione "O consentimento informado foi obtido de todos os sujeitos envolvidos no estudo". OU "O consentimento do paciente foi dispensado devido à RAZÃO (por favor, forneça uma justificativa detalhada)." OU "Não aplicável" para estudos que não envolvam seres humanos. Você também pode optar por excluir essa declaração se o estudo não envolver seres humanos.

O consentimento informado por escrito para publicação deve ser obtido dos pacientes participantes que possam ser identificados (inclusive pelos próprios pacientes). Por favor, indique "O consentimento informado por escrito foi obtido do(s) paciente(s) para publicar este artigo", se aplicável.

Declaração de disponibilidade de dados: Nesta seção, forneça detalhes sobre onde os dados que suportam os resultados relatados podem ser encontrados, incluindo

links para conjuntos de dados arquivados publicamente analisados ou gerados durante o estudo. Consulte as Declarações de Disponibilidade de Dados sugeridas na seção "Políticas de Dados de Pesquisa MDPI". Você pode optar por excluir essa declaração se o estudo não relatar nenhum dado.

Conflitos de Interesse: Os autores devem identificar e declarar quaisquer circunstâncias ou interesses pessoais que possam ser percebidos como influenciadores da representação ou interpretação dos resultados da pesquisa relatada. Se não houver conflito de interesses, por favor, indique "Os autores declaram não haver conflito de interesses". Qualquer papel dos patrocinadores de financiamento na escolha do projeto de pesquisa; desenho do estudo; na recolha, análise ou interpretação de dados; na redação do manuscrito; ou na decisão de publicar os resultados devem ser declarados nesta seção. A Genes não publica estudos financiados parcial ou totalmente pela indústria do tabaco. Quaisquer projectos financiados pela indústria devem prestar especial atenção à declaração completa de envolvimento dos financiadores. Se não houver nenhum papel, por favor, indique "Os patrocinadores não tiveram nenhum papel na concepção, execução, interpretação ou redação do estudo". Para mais detalhes, consulte Conflito de Interesses.

Referências: As referências devem ser numeradas em ordem de aparição no texto (incluindo legendas de tabelas e legendas de figuras) e listadas individualmente no final do manuscrito. Recomendamos preparar as referências com um pacote de software de bibliografia, como EndNote, ReferenceManager ou Zotero para evitar erros de digitação e referências duplicadas. Encorajamos citações a dados, código de computador e outros materiais de pesquisa citáveis. Se disponível on-line, você pode usar o estilo de referência 9. abaixo.

Citações e referências em arquivos suplementares são permitidas desde que também apareçam no texto principal e na lista de referências.

No texto, os números de referência devem ser colocados entre colchetes [], e colocados antes da pontuação; por exemplo, [1], [1–3] ou [1,3]. Para citações incorporadas no texto com paginação, use parênteses e colchetes para indicar o número de referência e os números de página; por exemplo [5] (p. 10). ou [6] (pp. 101–105).

A lista de referência deve incluir o título completo, conforme recomendado pelo guia de estilo do ACS. Arquivos de estilo para Endnote e Zotero estão disponíveis.

As referências devem ser descritas da seguinte forma, dependendo do tipo de trabalho:

Artigos de Revista:

1. Autor 1, A.B.; Autor 2, C.D. Título do artigo. Nome do diário abreviado Ano, Volume, intervalo de páginas.

Livros e Capítulos de Livros:

2. Autor 1, A.; Autor 2, B. Título do Livro, 3^a ed.; Editora: Local da Editora, País, Ano; pp. 154–196.

3. Autor 1, A.; Autor 2, B. Título do capítulo. In Título do Livro, 2^a ed.; Editor 1, A., Editor 2, B., Eds.; Editora: Local da Editora, País, Ano; Volume 3, pp. 154–196.

Materiais inéditos destinados à publicação:

4. Autor 1, A.B.; Autor 2, C. Título da Obra Inédita (opcional). Afiliação por Correspondência, Cidade, Estado, País. ano, status (manuscrito em preparação; a ser submetido).

5. Autor 1, A.B.; Autor 2, C. Título da obra inédita. Nome da revista abreviado ano, frase indicando estágio de publicação (submetido; aceito; no prelo).

Materiais não publicados não destinados à publicação:

6. Autor 1, A.B. (Afiliação, Cidade, Estado, País); Autor 2, C. (Afiliação, Cidade, Estado, País). Fase descrevendo o material, ano. (fase: Comunicação pessoal; Comunicação privada; Trabalhos inéditos; etc.)

Anais da Conferência:

7. Autor 1, A.B.; Autor 2, C.D.; Autor 3, E.F. Título da Apresentação. No Título do Trabalho Coletado (se disponível), Anais do Nome da Conferência, Local da Conferência, País, Data da Conferência; Editor 1, Editor 2, Eds. (se disponível); Editora: Cidade, País, Ano (se disponível); Número do Resumo (opcional), Paginação (opcional).

Tese:

8. Autor 1, A.B. Título da Tese. Nível de Tese, Universidade de Concessão de Grau, Localização da Universidade, Data de Conclusão.

Sites:

9. Título do Site. Disponível online: URL (acessado no Dia Mês Ano).

Ao contrário dos trabalhos publicados, os sites podem mudar ao longo do tempo ou desaparecer, por isso encorajamos você a criar um arquivo do site citado usando um serviço como o WebCite. Os sites arquivados devem ser citados usando o link

fornecido da seguinte forma:

10. Título do Site. URL (arquivado no dia mês ano).

Consulte a Lista de Referências e o Guia de Citações para obter informações mais detalhadas.

Preparação de Figuras, Esquemas e Tabelas

O arquivo para figuras e esquemas deve ser fornecido durante o envio em um único arquivo zip e em uma resolução suficientemente alta (largura / altura mínima de 1000 pixels ou uma resolução de 300 dpi ou superior). Formatos comuns são aceitos, no entanto, TIFF, JPEG, EPS e PDF são preferidos.

Os genes podem publicar arquivos multimídia em artigos ou como materiais suplementares. Entre em contato com a redação para mais informações.

Todas as Figuras, Esquemas e Tabelas devem ser inseridas no texto principal perto de sua primeira citação e devem ser numeradas após seu número de aparição (Figura 1, Esquema I, Figura 2, Esquema II, Tabela 1, etc.).

Todas as Figuras, Esquemas e Tabelas devem ter um título explicativo curto e uma legenda.

Todas as colunas da tabela devem ter um título explicativo. Para facilitar a edição de texto de tabelas maiores, fontes menores podem ser usadas, mas não menos de 8 pt. de tamanho. Os autores devem usar a opção Tabela do Microsoft Word para criar tabelas.

Os autores são encorajados a preparar figuras e esquemas em cores (RGB a 8 bits por canal). Não há custo adicional para a publicação de gráficos coloridos.

Imagens originais para requisitos de manchas e géis

Para o texto principal, certifique-se de que:

Todas as amostras experimentais e controles utilizados para uma análise comparativa são executados na mesma mancha/gel.

Os métodos de processamento de imagem, como ajustar o brilho ou o contraste, não alteram ou distorcem as informações na figura e são aplicados a cada pixel. Bolhos/géis de alto contraste são desencorajados.

As manchas/géis recortados presentes no texto principal retêm todas as informações e faixas importantes.

Você verificou os números em busca de duplicações e garantiu que as legendas das figuras sejam claras e precisas. Por favor, inclua todas as informações relevantes nas legendas das figuras e indique claramente qualquer rearranjo de faixas.

A fim de garantir a integridade e a validade científica das manchas (incluindo, mas não se limitando a, manchas ocidentais) e o relato de dados em gel, as imagens originais, não cortadas e não ajustadas devem ser carregadas como arquivos de Informações de Suporte no momento da submissão inicial.

Um único arquivo PDF ou uma pasta zip, incluindo todas as imagens originais relatadas na figura principal e figuras suplementares, deve ser preparado. Os autores devem anotar cada imagem original, correspondente à figura no artigo principal ou materiais suplementares, e rotular cada faixa ou ordem de carregamento. Todas as amostras experimentais e controles utilizados para uma análise comparativa devem ser executados na mesma imagem blot/gel. Para análises quantitativas, indicar os blots/géis para cada replicado biológico independente utilizado na análise.

Materiais Suplementares, Depósito de Dados e Código-Fonte de Software

Políticas de dados de pesquisa do MDPI

O MDPI está comprometido em apoiar o intercâmbio científico aberto e permitir que nossos autores alcancem as melhores práticas no compartilhamento e arquivamento de dados de pesquisa. Encorajamos todos os autores de artigos publicados em periódicos MDPI a compartilhar seus dados de pesquisa. As diretrizes individuais do periódico podem ser encontradas na página "Instruções para Autores". As políticas de compartilhamento de dados dizem respeito ao conjunto mínimo de dados que apóia as descobertas centrais de um estudo publicado. Os dados gerados devem ser disponibilizados publicamente e citados de acordo com as diretrizes da revista.

As políticas de dados MDPI são informadas pelas Diretrizes TOP e pelos Princípios FAIR.

Quando estiverem presentes questões éticas, legais ou de privacidade, os dados não devem ser partilhados. Os autores devem deixar claras quaisquer limitações na Declaração de Disponibilidade de Dados no momento da submissão. Os autores devem garantir que os dados compartilhados estejam de acordo com o consentimento fornecido pelos participantes sobre o uso de dados confidenciais.

As Declarações de Disponibilidade de Dados fornecem detalhes sobre onde os dados que suportam os resultados relatados podem ser encontrados, incluindo links para conjuntos de dados arquivados publicamente analisados ou gerados durante o estudo.

Abaixo estão sugeridas as Declarações de Disponibilidade de Dados:

Dados disponíveis em um repositório acessível ao público

Os dados apresentados neste estudo estão disponíveis abertamente em [nome do

repositório, por exemplo, FigShare] em [doi], número de referência [número de referência].

Dados disponíveis em um repositório de acesso público que não emite DOIs Conjuntos de dados publicamente disponíveis foram analisados neste estudo. Estes dados podem ser consultados aqui: [link/número de adesão]

Dados disponíveis a pedido devido a restrições por exemplo, privacidade ou ética Os dados apresentados neste estudo estão disponíveis a pedido do autor correspondente. Os dados não estão disponíveis publicamente devido a [inserir motivo aqui]

As Restrições de Dados da 3^a Parte aplicam-se à disponibilidade desses dados. Os dados foram obtidos de [terceiros] e estão disponíveis [dos autores / no URL] com a permissão de [terceiros]. Compartilhamento de dados não aplicável Nenhum dado novo foi criado ou analisado neste estudo. O compartilhamento de dados não é aplicável a este artigo.

Os dados apresentados neste estudo estão disponíveis em [inserir artigo ou material suplementar aqui]

Citação dos dados:

[conjunto de dados] Autores. Ano. Título do conjunto de dados; Re却tório ou arquivo de dados; Versão (se houver); Identificador persistente (por exemplo, DOI).

Código de Computador e Software

Para trabalhos em que um novo código de computador foi desenvolvido, os autores devem liberar o código depositando em um re却tório público reconhecido, como o GitHub, ou fazendo o upload como informações suplementares à publicação. O nome, a versão, a corporação e as informações de localização de todos os softwares utilizados devem ser claramente indicados. Por favor, inclua todos os parâmetros usados para executar análises de software/programas.

Material Suplementar

Dados e arquivos adicionais podem ser carregados como "Arquivos Suplementares" durante o processo de submissão do manuscrito. Os arquivos complementares também estarão disponíveis para os pareceristas como parte do processo de revisão por pares. Qualquer formato de arquivo é aceitável; no entanto, recomendamos que formatos comuns e não proprietários sejam usados sempre que possível. Para obter

mais informações sobre materiais complementares, consulte https://www.mdpi.com/authors/layout#_bookmark83.

Referências em arquivos suplementares

Citações e Referências em Arquivos Complementares são permitidas desde que também apareçam na lista de referências do texto principal.

Dados não publicados

Restrições na disponibilidade de dados devem ser observadas durante a submissão e no manuscrito. "Dados não mostrados" devem ser evitados: os autores são encorajados a publicar todas as observações relacionadas ao manuscrito submetido como Material Suplementar. "Dados não publicados" destinados à publicação em um manuscrito que esteja planejado, "em preparação" ou "submetido", mas ainda não aceito, devem ser citados no texto e uma referência deve ser adicionada na seção Referências. "Comunicação Pessoal" também deve ser citada no texto e referência adicionada na seção Referências. (veja também a lista de referências MDPI e o guia de estilo de citações).

Hospedagem remota e grandes conjuntos de dados

Os dados podem ser depositados em prestadores de serviços especializados ou repositórios institucionais/sujeitos, preferencialmente aqueles que utilizam o mecanismo DataCite. Grandes conjuntos de dados e arquivos maiores que 60 MB devem ser depositados dessa maneira. Para obter uma lista de outros repositórios especializados em dados científicos e experimentais, consulte databib.org ou re3data.org. O nome do repositório de dados, o link para o conjunto de dados (URL) e o número de acesso, o número doi ou identificador do conjunto de dados devem ser fornecidos no documento. A revista Data também aceita submissões de artigos de conjuntos de dados.

Deposição de sequências e dados de expressão

Novas informações de sequência devem ser depositadas no banco de dados apropriado antes da submissão do manuscrito. Os números de adesão fornecidos pela base de dados devem ser incluídos no manuscrito submetido. Os manuscritos não serão publicados até que o número de adesão seja fornecido.

Novas sequências de ácidos nucleicos devem ser depositadas em um repositório aceitável, como GenBank, EMBL ou DDBJ. As sequências devem ser enviadas para apenas um banco de dados.

Novos conjuntos de dados de sequenciamento de alto rendimento (HTS) (RNA-seq,

ChIP-Seq, análise de degradoma, ...) devem ser depositados no banco de dados GEO ou no Sequence Read Archive (SRA) do NCBI.

Novos dados de microarray devem ser depositados nos bancos de dados GEO ou ArrayExpress. As diretrizes "Minimal Information About a Microarray Experiment" (MIAME) publicadas pela Microarray Gene Expression Data Society devem ser seguidas.

Novas sequências proteicas obtidas por sequenciamento proteico devem ser submetidas ao UniProt (ferramenta de submissão SPIN). A estrutura proteica anotada e sua sequência de referência devem ser submetidas ao RCSB do Protein Data Bank. Todos os nomes de sequência e os números de adesão fornecidos pelas bases de dados devem ser fornecidos na secção Materiais e Métodos do artigo.

Deposição de Dados Proteômicos

Os métodos utilizados para gerar os dados proteômicos devem ser descritos em detalhes e incentivamos os autores a aderirem ao "Minimum Information About a Proteomics Experiment". Todos os dados brutos gerados por espectrometria de massa devem ser depositados no banco de dados público apropriado, como ProteomeXchange, PRIDE ou jPOST. No momento do envio, inclua todas as informações relevantes na seção de materiais e métodos, como repositório onde os dados foram enviados e link, identificador de conjunto de dados, nome de usuário e senha necessários para acessar os dados.

Ética em Pesquisa e Publicação

Ética em Pesquisa

Pesquisa Envolvendo Seres Humanos

Ao relatar pesquisas que envolvam seres humanos, material humano, tecidos humanos ou dados humanos, os autores devem declarar que as investigações foram realizadas seguindo as regras da Declaração de Helsinque de 1975 (<https://www.wma.net/what-we-do/medical-ethics/declaration-of-helsinki/>), revisada em 2013. De acordo com o ponto 23 desta declaração, uma aprovação do conselho de revisão institucional local (IRB) ou outro comitê de ética apropriado deve ser obtida antes de realizar a pesquisa para confirmar que o estudo atende às diretrizes nacionais e internacionais. No mínimo, uma declaração incluindo o código de identificação do projeto, a data de aprovação e o nome do comitê de ética ou do conselho de revisão institucional deve ser declarada na Seção "Declaração do Conselho de Revisão Institucional" do artigo.

Exemplo de declaração ética: "Todos os sujeitos assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido para inclusão antes de participarem do estudo. O estudo foi realizado de acordo com a Declaração de Helsinque, e o protocolo foi aprovado pelo Comitê de Ética do XXX (Código de Identificação do Projeto)."

Para estudos não intervencionistas (por exemplo, pesquisas, questionários, pesquisas de mídia social), todos os participantes devem ser totalmente informados se o anonimato é assegurado, por que a pesquisa está sendo conduzida, como seus dados serão usados e se há algum risco associado. Tal como acontece com todas as pesquisas envolvendo seres humanos, a aprovação ética de um comitê de ética apropriado deve ser obtida antes da realização do estudo. Se a aprovação ética não for necessária, os autores devem fornecer uma isenção do comitê de ética ou são encorajados a citar a legislação local ou nacional que indica que a aprovação ética não é necessária para esse tipo de estudo. Caso tenha sido concedida isenção a um estudo, o nome do comitê de ética que o previu deve ser indicado na secção «Declaração do Comitê de Revisão Institucional», com uma explicação completa sobre as razões pelas quais a aprovação ética não era necessária.

Um consentimento informado por escrito para publicação deve ser obtido dos pacientes participantes. Os dados relativos a participantes individuais devem ser descritos em detalhes, mas as informações privadas que identificam os participantes não precisam ser incluídas, a menos que os materiais identificáveis sejam relevantes para a pesquisa (por exemplo, fotografias dos rostos dos participantes que mostrem um sintoma específico). As iniciais dos doentes ou outros identificadores pessoais não devem aparecer em quaisquer imagens. Para manuscritos que incluem detalhes do caso, informações pessoais e/ou imagens de pacientes, os autores devem obter o consentimento informado assinado para publicação dos pacientes (ou de seus familiares/responsáveis) antes de se submeterem a um periódico do MDPI. Os detalhes do paciente devem ser anonimizados na medida do possível, por exemplo, não mencione idade, etnia ou ocupação específicas quando não forem relevantes para as conclusões. Um formulário de permissão de modelo está disponível para download. Uma versão em branco do formulário usado para obter permissão (sem os nomes ou a assinatura do paciente) deve ser carregada com o seu envio. Os editores reservam-se o direito de rejeitar qualquer submissão que não atenda a esses requisitos.

Você pode consultar nosso formulário de amostra e fornecer um formulário apropriado

após consultar sua instituição afiliada. Para fins de publicação em periódicos MDPI, um formulário de consentimento, permissão ou liberação deve incluir permissão ilimitada para publicação em todos os formatos (incluindo impresso, eletrônico e online), em versões sublicenciadas e reimpressas (incluindo traduções e trabalhos derivados) e em outros trabalhos e produtos sob licença de acesso aberto. Para respeitar a privacidade dos pacientes e de qualquer outro indivíduo, por favor, não envie formulários assinados. A revista reserva-se o direito de solicitar aos autores que forneçam formulários assinados, se necessário.

Se o estudo relatar pesquisas envolvendo grupos vulneráveis, uma verificação adicional pode ser realizada. O manuscrito submetido será examinado pelo escritório editorial e, mediante solicitação, evidências documentais (formulários de consentimento em branco e quaisquer documentos de discussão relacionados do conselho de ética) devem ser fornecidos. Além disso, quando os estudos descrevem grupos por raça, etnia, gênero, deficiência, doença, etc., a explicação sobre por que tal categorização era necessária deve ser claramente declarada no artigo.

Diretrizes Éticas para o Uso de Animais em Pesquisa

Os editores exigirão que os benefícios potencialmente derivados de qualquer pesquisa que cause danos aos animais sejam significativos em relação a qualquer custo suportado pelos animais, e que os procedimentos seguidos provavelmente não causarão ofensa à maioria dos leitores. Os autores devem, em particular, assegurar que a sua investigação está em conformidade com os «3Rs [1]» geralmente aceites:

Substituição de animais por alternativas, sempre que possível,

Redução do número de animais utilizados, e

Refinamento das condições e procedimentos experimentais para minimizar os danos aos animais.

Os autores devem incluir detalhes sobre moradia, criação e manejo da dor em seu manuscrito.

Para mais orientações, os autores devem consultar o Código de Conduta para o Alojamento e Cuidados de Animais Utilizados em Procedimentos Científicos [2], a Associação Americana para a Ciência dos Animais de Laboratório [3] ou a Associação Europeia de Investigação Animal [4].

Se a legislação nacional o exigir, os estudos que envolvam vertebrados ou invertebrados superiores só devem ser realizados após a aprovação do comité de ética competente. No mínimo, o código de identificação do projeto, a data de

aprovação e o nome do comitê de ética ou do comitê de revisão institucional devem ser indicados na Seção "Declaração do Comitê de Revisão Institucional". Os procedimentos de pesquisa devem ser realizados de acordo com os regulamentos nacionais e institucionais. As declarações sobre o bem-estar dos animais devem confirmar que o estudo cumpriu toda a legislação pertinente. Estudos clínicos envolvendo animais e intervenções fora dos cuidados de rotina exigem supervisão do comitê de ética, de acordo com a Associação Médica Veterinária Americana. Se o estudo envolveu animais de propriedade do cliente, o consentimento informado do cliente deve ser obtido e certificado no relatório manuscrito da pesquisa. Os proprietários devem ser plenamente informados se existem riscos associados aos procedimentos e que a pesquisa será publicada. Se disponível, deve ser prestado um elevado nível de cuidados veterinários. Os autores são responsáveis pela exatidão das afirmações fornecidas no manuscrito.

Se a aprovação ética não for exigida pelas leis nacionais, os autores devem fornecer uma isenção do comitê de ética, se houver uma disponível. Caso tenha sido concedida isenção a um estudo, o nome do comitê de ética que o prestou deve ser indicado na secção «Declaração do Comitê de Revisão Institucional», com uma explicação completa sobre as razões pelas quais a aprovação ética não foi necessária.

Se nenhum comitê de ética animal estiver disponível para revisar as inscrições, os autores devem estar cientes de que a ética de suas pesquisas será avaliada por revisores e editores. Os autores devem fornecer uma declaração que justifique o trabalho a partir de uma perspectiva ética, utilizando o mesmo quadro utilitário que é utilizado pelos comitês de ética. Os autores podem ser solicitados a fornecer isso, mesmo que tenham recebido aprovação ética.

O MDPI endossa as diretrizes ARRIVE (arriveguidelines.org/) para relatar experimentos usando animais vivos. Autores e revisores devem usar as diretrizes do ARRIVE como uma lista de verificação, que pode ser encontrada em <https://arriveguidelines.org/sites/arrive/files/documents/ARRIVE%20Compliance%20Questionnaire.pdf>. Os editores reservam-se o direito de solicitar a lista de verificação e rejeitar submissões que não cumpram estas diretrizes, rejeitar submissões com base em preocupações éticas ou de bem-estar animal ou se o procedimento descrito não parecer ser justificado pelo valor do trabalho apresentado.

NSW Departamento de Indústrias Primárias e Painel de Revisão de Pesquisa Animal.

Três Rs. Disponível online: <https://www.animalethics.org.au/three-rs>

Home Office. Lei dos Animais (Procedimentos Científicos) de 1986. Código de Conduta para o Alojamento e Cuidados de Animais Criados, Fornecidos ou Utilizados para Fins Científicos. Disponível online: https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/388535/CoPanimalsWeb.pdf

Associação Americana de Zootecnia de Laboratório. A Base Científica para a Regulamentação dos Cuidados e Utilização dos Animais. Disponível online: <https://www.aalas.org/about-aalas/position-papers/scientific-basis-for-regulation-of-animal-care-and-use>

Associação Europeia de Investigação Animal. Regulamentos da UE em matéria de investigação com animais. Disponível online: <https://www.eara.eu/animal-research-law>

Pesquisa envolvendo linhagens celulares

As seções de métodos para submissões de relatórios sobre pesquisas com linhagens celulares devem indicar a origem de quaisquer linhagens celulares. Para as linhagens celulares estabelecidas, a proveniência deve ser declarada e as referências também devem ser dadas a um artigo publicado ou a uma fonte comercial. Se linhas celulares de novo inéditas foram usadas, incluindo aquelas doadas de outro laboratório, detalhes do conselho de revisão institucional ou da aprovação do comitê de ética devem ser dados, e a confirmação do consentimento informado por escrito deve ser fornecida se a linha for de origem humana.

Um exemplo de Declarações Éticas:

A linhagem celular HCT116 foi obtida a partir de XXXX. A linha celular MLH1+ foi fornecida pela XXXXX, Ltd. A linhagem celular DLD-1 foi obtida do Dr. XXXX. Os plasmídeos repórteres DR-GFP e SA-GFP foram obtidos do Dr. XXX e o vetor de expressão Rad51K133A foi obtido do Dr. XXXX.

Pesquisa envolvendo plantas

A pesquisa experimental em plantas (cultivadas ou selvagens), incluindo a coleta de material vegetal, deve estar em conformidade com as diretrizes institucionais, nacionais ou internacionais. Recomendamos que os autores cumpram a Convenção sobre Diversidade Biológica e a Convenção sobre o Comércio de Espécies da Fauna e da Flora Selvagens Ameaçadas de Extinção.

Para cada manuscrito submetido, devem ser fornecidas informações genéticas e de origem que apoiem. Para manuscritos de pesquisa envolvendo plantas raras e não

modelo (exceto *Arabidopsis thaliana*, *Nicotiana benthamiana*, *Oryza sativa* ou muitas outras plantas modelo típicas), os espécimes de voucher devem ser depositados em um herbário ou museu acessível. Os vouchers podem ser solicitados para revisão por futuros investigadores para verificar a identidade do material usado no estudo (especialmente se rearranjos taxonômicos ocorrerem no futuro). Devem incluir pormenores sobre as populações amostradas no local de recolha (coordenadas GPS), data de recolha e documentar a(s) parte(s) utilizada(s) no estudo, se for caso disso. Para espécies raras, ameaçadas ou ameaçadas de extinção, isso pode ser dispensado, mas é necessário que o autor descreva isso na carta de apresentação. Os editores reservam-se o direito de rejeitar qualquer submissão que não atenda a esses requisitos.

Um exemplo de Declarações Éticas:

Plantas de *Torenia fournieri* foram utilizadas neste estudo. As cultivares Crown White (CrW) de flor branca e Crown Violet (CrV) de flor violeta selecionadas da 'Crown Mix' (XXX Company, City, Country) foram gentilmente fornecidas pelo Dr. XXX (XXX Institute, City, Country).

As linhas mutantes *Arabidopsis* (SALKxxxx, SAILxxxx,...) foram gentilmente fornecidas pelo Dr. XXX, instituto, cidade, país).

Registro de Ensaios Clínicos

Inscrição

O MDPI segue as diretrizes do International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) que exigem e recomendam o registro de ensaios clínicos em um registro público de ensaios no momento ou antes do momento da primeira inscrição do paciente como condição de consideração para publicação.

Estudos puramente observacionais não requerem registro. Um ensaio clínico não se refere apenas a estudos que ocorrem em um hospital ou envolvem produtos farmacêuticos, mas também se refere a todos os estudos que envolvem randomização de participantes e classificação de grupos no contexto da intervenção em avaliação.

Os autores são fortemente encorajados a pré-registrar ensaios clínicos com um registro internacional de ensaios clínicos e citar uma referência ao registro na seção Métodos. As bases de dados adequadas incluem clinicaltrials.gov, o Registo de Ensaios Clínicos da UE e as enumeradas pela Plataforma Internacional de Registro de Ensaios Clínicos da Organização Mundial de Saúde.

A aprovação para conduzir um estudo de um órgão de revisão local, regional ou

nacional independente não é equivalente ao registro prospectivo de ensaios clínicos. O MDPI reserva-se o direito de recusar qualquer artigo sem registro de estudo para posterior revisão por pares. No entanto, se o protocolo do estudo tiver sido publicado antes da inscrição, o registro pode ser dispensado com a citação correta do protocolo publicado.

Declaração CONSORT

O MDPI requer uma lista de verificação CONSORT 2010 preenchida e um diagrama de fluxo como condição de submissão ao relatar os resultados de um estudo randomizado. Os modelos para estes podem ser encontrados aqui ou no site da CONSORT (<http://www.consort-statement.org>), que também descreve várias extensões de lista de verificação CONSORT para diferentes designs e tipos de dados além de dois ensaios paralelos em grupo. No mínimo, seu artigo deve relatar o conteúdo abordado por cada item da lista de verificação.

Sexo e Gênero na Pesquisa

Encorajamos nossos autores a seguir as diretrizes "Sex and Gender Equity in Research – SAGER – " e a incluir considerações de sexo e gênero, quando relevante. Os autores devem usar os termos sexo (atributo biológico) e gênero (moldado por circunstâncias sociais e culturais) com cuidado, a fim de evitar confundir ambos os termos. Os títulos dos artigos e/ou resumos devem indicar claramente a que sexo(s) o estudo se aplica. Os autores também devem descrever em segundo plano, se as diferenças de sexo e/ou gênero podem ser esperadas; relatar como o sexo e/ou o gênero foram contabilizados no desenho do estudo; Fornecer dados desagregados por sexo e/ou gênero, se for caso disso; e discutir os respectivos resultados. Se uma análise de sexo e/ou gênero não foi conduzida, a justificativa deve ser dada na Discussão. Sugerimos que nossos autores consultem as diretrizes completas antes da submissão.

Fronteiras e Territórios

Potenciais disputas sobre fronteiras e territórios podem ter particular relevância para os autores na descrição de suas pesquisas ou em um endereço de correspondência do autor ou editor, e devem ser respeitadas. As decisões de conteúdo são uma questão editorial e, quando houver uma disputa ou reclamação potencial ou percebida, a equipe editorial tentará encontrar uma solução que satisfaça as partes envolvidas.

O MDPI permanece neutro em relação às reivindicações jurisdicionais em mapas

publicados e afiliações institucionais.

Declaração de Ética da Publicação

Genes é membro do Committee on Publication Ethics (COPE). Aderimos integralmente ao seu Código de Conduta e às suas Diretrizes de Melhores Práticas.

Os editores desta revista aplicam um rigoroso processo de revisão por pares, juntamente com políticas e padrões éticos rigorosos para garantir a adição de trabalhos científicos de alta qualidade ao campo da publicação acadêmica. Infelizmente, surgem casos de plágio, falsificação de dados, manipulação de imagens, crédito de autoria inadequado e afins. Os editores da Genes levam essas questões de ética editorial muito a sério e são treinados para proceder em tais casos com uma política de tolerância zero.

Os autores que desejam publicar seus artigos na Genes devem obedecer ao seguinte: Quaisquer fatos que possam ser percebidos como um possível conflito de interesses do(s) autor(es) devem ser divulgados no artigo antes da submissão.

Os autores devem apresentar com precisão seus resultados de pesquisa e incluir uma discussão objetiva sobre o significado de suas descobertas.

Os dados e métodos utilizados na pesquisa precisam ser apresentados com detalhes suficientes no artigo, para que outros pesquisadores possam replicar o trabalho.

Os dados brutos devem, preferencialmente, ser depositados publicamente pelos autores antes da submissão de seu manuscrito. Os autores precisam pelo menos ter os dados brutos prontamente disponíveis para apresentação aos pareceristas e aos editores da revista, se solicitado. Os autores precisam garantir que medidas apropriadas sejam tomadas para que os dados brutos sejam retidos na íntegra por um tempo razoável após a publicação.

Não é tolerada a submissão simultânea de manuscritos a mais de um periódico.

A revista aceita traduções exatas de trabalhos publicados anteriormente. Todas as submissões de traduções devem estar em conformidade com as nossas políticas de traduções.

Se erros e imprecisões forem encontrados pelos autores após a publicação de seu artigo, eles precisam ser prontamente comunicados aos editores desta revista para que as ações apropriadas possam ser tomadas. Por favor, consulte nossa política de Atualização de Documentos Publicados.

Seu manuscrito não deve conter nenhuma informação que já tenha sido publicada. Se você incluir figuras ou imagens já publicadas, obtenha a permissão necessária do

detentor dos direitos autorais para publicar sob a licença CC-BY. Para obter mais informações, consulte a página Direitos e Permissões.

Plágio, fabricação de dados e manipulação de imagens não são tolerados.

O plágio não é aceitável nas submissões de genes.

Plágio inclui copiar texto, ideias, imagens ou dados de outra fonte, mesmo de suas próprias publicações, sem dar qualquer crédito à fonte original.

A reutilização do texto copiado de outra fonte deve estar entre aspas e a fonte original deve ser citada. Se o desenho de um estudo ou a estrutura ou linguagem do manuscrito foram inspirados por trabalhos anteriores, esses trabalhos devem ser explicitamente citados.

Todos os envios MDPI são verificados quanto a plágio usando o software padrão da indústria iThenticate. Se o plágio for detectado durante o processo de revisão por pares, o manuscrito pode ser rejeitado. Se o plágio for detectado após a publicação, uma investigação ocorrerá e as ações serão tomadas de acordo com nossas políticas.

Os arquivos de imagem não devem ser manipulados ou ajustados de qualquer forma que possa levar a uma interpretação errônea das informações fornecidas pela imagem

original.

A manipulação irregular inclui: 1) introdução, aprimoramento, movimentação ou remoção de recursos da imagem original; 2) agrupamento de imagens que obviamente devem ser apresentadas separadamente (por exemplo, de diferentes partes do mesmo gel, ou de diferentes géis); ou 3) modificar o contraste, brilho ou equilíbrio de cores para obscurecer, eliminar ou melhorar algumas informações.

Se a manipulação irregular da imagem for identificada e confirmada durante o processo de revisão por pares, poderemos rejeitar o manuscrito. Se a manipulação irregular da imagem for identificada e confirmada após a publicação, podemos corrigir ou retratar o artigo.

Nossos editores internos investigarão quaisquer alegações de má conduta na publicação e poderão entrar em contato com as instituições ou financiadores dos autores, se necessário. Se forem encontradas evidências de má conduta, serão tomadas as medidas apropriadas para corrigir ou retirar a publicação. Espera-se que os autores cumpram as melhores práticas éticas de publicação ao publicar com o MDPI.

Política de Citação

Os autores devem garantir que, quando o material é retirado de outras fontes (incluindo seus próprios escritos publicados), a fonte seja claramente citada e que, quando apropriado, a permissão seja obtida.

Os autores não devem se envolver em autocitação excessiva de seu próprio trabalho.

Os autores não devem copiar referências de outras publicações se não tiverem lido o trabalho citado.

Os autores não devem citar preferencialmente publicações próprias ou de seus amigos, colegas ou instituições.

Os autores não devem citar anúncios ou material publicitário.

De acordo com as diretrizes do COPE, esperamos que "a redação original tirada diretamente de publicações de outros pesquisadores apareça entre aspas com as citações apropriadas". Esta condição também se aplica ao próprio trabalho de um autor. O COPE produziu um documento de discussão sobre manipulação de citações com recomendações para as melhores práticas.

Sugestões do Revisor

Durante o processo de submissão, por favor, sugira cinco potenciais revisores com a experiência apropriada para revisar o manuscrito. Os editores não necessariamente abordarão esses pareceristas. Por favor, forneça informações de contato detalhadas (endereço, página inicial, telefone, endereço de e-mail). Os pareceristas propostos não devem ser colaboradores atuais dos coautores nem ter publicado com nenhum dos coautores do manuscrito nos últimos cinco anos. Os revisores propostos devem ser de instituições diferentes dos autores. Você pode identificar os membros apropriados do Conselho Editorial da revista como potenciais revisores. Você pode sugerir revisores de entre os autores que você cita frequentemente em seu artigo.

Correções em inglês

Para facilitar a revisão adequada por pares do seu manuscrito, é essencial que ele seja submetido em inglês gramaticalmente correto. Conselhos sobre alguns pontos específicos da linguagem podem ser encontrados aqui.

O MDPI fornece pequenas edições em inglês por falantes nativos de inglês para todos os artigos aceitos, incluídos no APC. A APC não cobre a extensa edição em inglês. Seu artigo pode ser devolvido a você no estágio de edição em inglês do processo de publicação, se for necessária uma edição extensiva. Você pode optar por usar um serviço pago de edição de idiomas, como os Serviços de Autor da MDPI, antes de enviar seu artigo para publicação. Se você usar um serviço alternativo que forneça um

certificado de confirmação, envie uma cópia para o Escritório Editorial. Autores de países ou nações economicamente em desenvolvimento devem considerar o registro no AuthorAid, uma comunidade global de pesquisa que fornece networking, orientação, recursos e treinamento para pesquisadores.

Preprints e Trabalhos de Conferência

A Genes aceita submissões que tenham sido disponibilizadas anteriormente como preprints fornecidos que não foram submetidos a revisão por pares. Um preprint é uma versão preliminar de um artigo disponibilizado on-line antes da submissão a um periódico.

O MDPI opera o Preprints, um servidor de pré-impressão para o qual os artigos submetidos podem ser enviados diretamente após a conclusão da submissão do periódico. Observe que o Preprints opera independentemente do periódico e a publicação de um preprint não afeta o processo de revisão por pares. Consulte as instruções de Preprints para autores para obter mais informações.

Artigos de conferência expandidos e de alta qualidade podem ser considerados como artigos se atenderem aos seguintes requisitos: (1) o artigo deve ser expandido para o tamanho de um artigo de pesquisa; (2) o documento da conferência deve ser citado e anotado na primeira página do documento; (3) se os autores não detiverem os direitos autorais do artigo de conferência publicado, os autores devem solicitar a permissão apropriada do detentor dos direitos autorais; (4) os autores são convidados a divulgar que é um artigo da conferência em sua carta de apresentação e incluir uma declaração sobre o que foi alterado em comparação com o artigo original da conferência. A Genes não publica estudos-piloto ou estudos com poder estatístico inadequado.

Recomenda-se que os artigos de conferência não publicados que não atendam às condições acima sejam submetidos aos periódicos da Proceedings Series.

Autoria

O MDPI segue as diretrizes do International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) que afirmam que, para se qualificar para a autoria de um manuscrito, os seguintes critérios devem ser observados:

Contribuições substanciais para a concepção ou concepção da obra; ou a aquisição, análise ou interpretação de dados para o trabalho; E

Redigir o trabalho ou revisá-lo criticamente para conteúdo intelectual importante; E

Aprovação final da versão a publicar; E

Concordar em ser responsável por todos os aspectos do trabalho para garantir que as

questões relacionadas à precisão ou integridade de qualquer parte do trabalho sejam adequadamente investigadas e resolvidas.

Aqueles que contribuíram para o trabalho, mas não se qualificam para a autoria, devem ser listados nos agradecimentos. Orientações mais detalhadas sobre a autoria são dadas pelo International Council of Medical Journal Editors (ICMJE).

Qualquer alteração na lista de autores deve ser aprovada por todos os autores, incluindo qualquer um que tenha sido removido da lista. O autor correspondente deve atuar como um ponto de contato entre o editor e os outros autores e deve manter os coautores informados e envolvê-los nas principais decisões sobre a publicação. Reservamo-nos o direito de solicitar a confirmação de que todos os autores atendem às condições de autoria.

Para mais detalhes sobre autoria, consulte o site de ética do MDPI.

Recomendação dos Revisores

Os autores podem recomendar potenciais revisores. Os editores de periódicos verificarão se não há conflitos de interesse antes de entrar em contato com esses revisores e não considerarão aqueles com interesses concorrentes. Os revisores são convidados a declarar quaisquer conflitos de interesse. Os autores também podem inserir os nomes de potenciais revisores que desejam excluir da consideração na revisão por pares de seu manuscrito, durante o progresso inicial da submissão. A equipe editorial respeitará essas solicitações, desde que isso não interfira na avaliação objetiva e completa da submissão.

Independência Editorial

Falta de interferência nas decisões editoriais

A independência editorial é de extrema importância e o MDPI não interfere nas decisões editoriais. Todos os artigos publicados pelo MDPI são revisados por pares e avaliados por nossos conselhos editoriais independentes, e a equipe do MDPI não está envolvida nas decisões de aceitar manuscritos. Ao tomar uma decisão editorial, esperamos que o editor acadêmico tome sua decisão com base apenas em:

A idoneidade dos revisores selecionados;

Adequação dos comentários dos revisores e resposta do autor;

Qualidade científica geral do artigo.

Em todos os nossos periódicos, em todos os aspectos da operação, as políticas do MDPI são informadas pela missão de tornar os resultados da ciência e da pesquisa abertos e acessíveis o mais ampla e rapidamente possível.

Editores e Equipe Editorial como Autores

A equipe editorial ou os editores não devem estar envolvidos no processamento de seus próprios trabalhos acadêmicos. As submissões de autoria da equipe editorial / editores serão atribuídas a pelo menos dois revisores externos independentes. As decisões serão tomadas por outros membros do Conselho Editorial que não tenham conflito de interesses com o autor. A equipe do periódico não está envolvida no processamento de seu próprio trabalho submetido a nenhum periódico do MDPI.

Conflitos de Interesse

De acordo com o Comitê Internacional de Editores de Revistas Médicas, "Os autores devem evitar entrar em acordos com patrocinadores do estudo, tanto com fins lucrativos quanto sem fins lucrativos, que interfiram no acesso dos autores a todos os dados do estudo ou que interfiram em sua capacidade de analisar e interpretar os dados e de preparar e publicar manuscritos de forma independente quando e onde escolherem".

Todos os autores devem divulgar todas as relações ou interesses que possam influenciar ou enviesar inadequadamente o seu trabalho. Exemplos de potenciais conflitos de interesse incluem, entre outros, interesses financeiros (como associação, emprego, consultorias, propriedade de ações/ações, honorários, subsídios ou outros financiamentos, testemunhos de especialistas pagos e acordos de licenciamento de patentes) e interesses não financeiros (como relações pessoais ou profissionais, afiliações, crenças pessoais).

Os autores podem divulgar potenciais conflitos de interesse através do sistema de submissão on-line durante o processo de submissão. As declarações relativas a conflitos de interesses também podem ser recolhidas através do formulário de divulgação do MDPI. O autor correspondente deve incluir uma declaração resumida no manuscrito em uma seção separada "Conflitos de Interesse" colocada logo antes da lista de referência. A declaração deve refletir todas as potenciais divulgações de conflitos de interesse coletadas no formulário.

Veja abaixo exemplos de divulgações:

Conflitos de Interesse: O Autor A recebeu bolsas de pesquisa da Empresa A. O Autor B recebeu um honorário de palestrante da Empresa X e possui ações da Empresa Y. O Autor C esteve envolvido como consultor e testemunha especialista na Empresa Z. O Autor D é o inventor da patente X.

Se não houver conflitos, os autores devem declarar:

Conflitos de Interesse: Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Procedimentos Editoriais e Revisão por Pares

Verificações iniciais

Todos os manuscritos submetidos recebidos pelo Escritório Editorial serão verificados por um editor-gerente interno profissional para determinar se estão devidamente preparados e se seguem as políticas éticas da revista, incluindo aquelas para experimentação humana e animal. Manuscritos que não se encaixam na política de ética da revista ou não atendem aos padrões da revista serão rejeitados antes da revisão por pares. Os manuscritos que não estiverem devidamente preparados serão devolvidos aos autores para revisão e resubmissão. Após essas verificações, o Editor Administrativo consultará o Editor-Chefe ou Editores Associados dos periódicos para determinar se o manuscrito se encaixa no escopo do periódico e se é cientificamente sólido. Nenhuma avaliação sobre o impacto potencial do trabalho será feita nesta fase. As decisões de rejeição nesta fase serão verificadas pelo Editor-Chefe.

Revisão por pares

Uma vez que um manuscrito passa nas verificações iniciais, ele será atribuído a pelo menos dois especialistas independentes para revisão por pares. Uma revisão single-blind é aplicada, onde as identidades dos autores são conhecidas pelos revisores. Os comentários de revisão por pares são confidenciais e só serão divulgados com o consentimento expresso do revisor.

No caso de submissões regulares, os editores assistentes internos convidarão especialistas, incluindo recomendações de um editor acadêmico. Esses especialistas também podem incluir membros do Conselho Editorial e editores convidados da revista. Potenciais revisores sugeridos pelos autores também podem ser considerados. Os revisores não devem ter publicado com nenhum dos coautores durante os últimos três anos e não devem atualmente trabalhar ou colaborar com qualquer uma das instituições dos coautores do manuscrito submetido.

Revisão Aberta Opcional por Pares

A revista opera revisão por pares aberta opcional: os autores têm a opção de que todos os relatórios de revisão e decisões editoriais sejam publicados juntamente com seu manuscrito. Além disso, os revisores podem assinar sua revisão, ou seja, identificar-se nos relatórios de revisão publicados. Os autores podem alterar sua escolha para revisão aberta a qualquer momento antes da publicação, mas uma vez que o artigo tenha sido publicado, as alterações só serão feitas a critério do Editor

e do Editor-Chefe. Encorajamos os autores a aproveitar essa oportunidade como prova do rigoroso processo empregado na publicação de suas pesquisas. Para garantir uma arbitragem imparcial, os nomes dos pareceristas só serão revelados se os pareceristas concordarem em fazê-lo e depois de um artigo ter sido aceito para publicação.

Decisão Editorial e Revisão

Todos os artigos, revisões e comunicações publicados em periódicos MDPI passam pelo processo de revisão por pares e recebem pelo menos duas revisões. O editor interno comunicará a decisão do editor acadêmico, que será uma das seguintes:

Reconsiderar após grandes revisões: A aceitação do manuscrito dependeria das revisões

. O autor precisa fornecer uma resposta ponto a ponto ou fornecer uma refutação se alguns dos comentários do revisor não puderem ser revisados. Um máximo de duas rodadas de revisão principal por manuscrito é normalmente fornecido. Os autores serão solicitados a reenviar o artigo revisado dentro de um prazo adequado, e a versão revisada será devolvida ao revisor para mais comentários. Se o tempo de revisão necessário for estimado em mais de 2 meses, recomendaremos que os autores retirem seu manuscrito antes de reenviar, de modo a evitar pressão de tempo desnecessária e garantir que todos os manuscritos sejam suficientemente revisados.

Rejeitar e incentivar a resubmissão:
Se experimentos adicionais forem necessários para apoiar as conclusões, o manuscrito será rejeitado e os autores serão encorajados a reenviar o artigo uma vez que novos experimentos tenham sido conduzidos.

Rejeição:

O artigo tem falhas graves e/ou não faz nenhuma contribuição significativa original. Nenhuma oferta de resubmissão à revista é fornecida.

Todos os comentários dos revisores devem ser respondidos ponto a ponto. Quando os autores discordam de um revisor, eles devem fornecer uma resposta clara.

Apelos do Autor

Os autores podem recorrer de uma rejeição enviando um e-mail para a Redação da revista. O recurso deve fornecer uma justificativa detalhada, incluindo respostas ponto

a ponto aos comentários dos revisores e/ou do Editor usando um formulário de recurso. Os recursos só podem ser apresentados na sequência de uma decisão de "rejeição e recusa de reapresentação" e devem ser apresentados no prazo de três meses a contar da data da decisão. O não cumprimento destes critérios fará com que o recurso não seja mais apreciado. O Editor Administrativo encaminhará o manuscrito e as informações relacionadas (incluindo as identidades dos pareceristas) a um Membro do Conselho Editorial designado. O Editor Acadêmico que estiver sendo consultado será solicitado a fornecer uma recomendação consultiva sobre o manuscrito e poderá recomendar a aceitação, a revisão por pares ou a manutenção da decisão de rejeição original. Esta decisão será então validada pelo Editor-Chefe. Uma decisão de rejeição nesta fase é definitiva e não pode ser revertida.

Produção e Publicação

Uma vez aceito, o manuscrito passará por edição profissional de cópia, edição em inglês, revisão pelos autores, correções finais, paginação e publicação no site da www.mdpi.com.

Promovendo a equidade, a diversidade e a inclusão nos periódicos MDPI

Nossos Editores Gerentes incentivam os Editores-Chefes e Editores Associados a nomear diversos Conselhos Editoriais especializados. Isso também se reflete em nosso local de trabalho multinacional e inclusivo. Estamos orgulhosos de criar oportunidades iguais sem levar em conta gênero, etnia, orientação sexual, idade, religião ou status socioeconômico. Não há lugar para discriminação em nosso local de trabalho e os editores de periódicos MDPI devem defender esses princípios em alta consideração.

Iniciativa de Identificação de Recursos

Para melhorar a reprodutibilidade da pesquisa científica, a Iniciativa de Identificação de Recursos visa fornecer identificadores persistentes exclusivos para os principais recursos biológicos, incluindo anticorpos, linhas celulares, organismos modelo e ferramentas.

Encorajamos os autores a incluir identificadores exclusivos - RRIDs - fornecidos pelo Portal de Identificação de Recursos na seção dedicada do manuscrito.

Para ajudar os autores a encontrar rapidamente os identificadores corretos para seus materiais, há um único site onde todos os tipos de recursos podem ser encontrados e um botão "citar isso" ao lado de cada recurso, que contém um texto de citação adequado que deve ser incluído na seção de métodos do manuscrito.